



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

## Contribución de la hipoglucemia y otros factores emergentes al riesgo cardiovascular de personas con diabetes tipo 1. Estrategias para su prevención mediante el uso de tecnología

Alex Mesa Pineda

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

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

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

## TESIS DOCTORAL

# **Contribución de la hipoglucemia y otros factores emergentes al riesgo cardiovascular de personas con diabetes tipo 1. Estrategias para su prevención mediante el uso de tecnología**

Memoria de tesis doctoral presentada por

**Alex Mesa Pineda**

para optar al grado de doctor por la Universitat de Barcelona

### **Directores:**

Marga Giménez Álvarez

Ignacio Conget Donlo

Unidad de Diabetes. Servicio de Endocrinología y Nutrición.

Hospital Clínic de Barcelona



**Clínic  
Barcelona**



**UNIVERSITAT DE  
BARCELONA**

Programa de Doctorado de Medicina e Investigación Traslacional.

Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud.

Universitat de Barcelona

Marzo 2024



## AGRADECIMIENTOS

Per a un metge en formació és clau tenir exemples a seguir en els diferents aspectes de l'exercici de la medicina. No només professionals amb amplis coneixements, sinó persones que posin el pacient al centre, tinguin inquietud per ensenyar i preservin aquella curiositat per respondre preguntes no resoltes. Tot i això, el que probablement marqui més la diferència sigui trobar persones que et guiïn durant el constant procés de formació, ajudant-te tant a fixar els teus propis objectius com a traçar el camí per assolir-los. En aquest sentit, he tingut la sort durant els darrers anys d'aprendre d'excel·lents clínics, docents i investigadors, però també de tenir magnífics mentors. Persones que m'han plantejat reptes com el que suposa aquesta tesi i que, en definitiva, han estat imprescindibles per a la seva realització.

A tu, Marga, per la confiança dipositada en mi des del primer dia, així com la il·lusió i empenya per crear i tirar endavant aquest projecte. Gràcies també per liderar amb flexibilitat i per ensenyar-me la importància de la comunicació, especialment amb els pacients.

A ti, Ignacio, por introducirme en el mundo de la investigación y por tu implicación directa en delinear ese camino a seguir. Gracias por tus rápidas y certeras correcciones de los trabajos, pero sobre todo por tu honestidad y generosidad.

A ti, Toni, por ser una pieza clave de mi formación tanto a nivel clínico como de investigación. Gracias por las horas dedicadas a este proyecto, que también han resultado fundamentales.

A totes aquelles persones amb diabetis que han participat desinteressadament en els estudis que conformen aquesta tesi. Moltes gràcies per la vostra predisposició i implicació en el projecte, tot i realitzar-se durant condicions complicades per a la recerca com la pandèmia per COVID-19.

A l'Hospital Clínic per finançar aquest projecte i formar-me durant tots aquests anys. En especial, a l'equip d'Endocrinologia i Nutrició per ensenyar-me tot el que sé d'aquesta especialitat i contagiar-me les ganes de fer recerca. Poques coses poden unir més que les adversitats i és que hem fet front plegats a una pandèmia mundial i a un *ciberatac*.

Als meus resis grans per ensenyar-me amb paciència, especialment a la Clara per introduir-me tant en el món de la tecnologia de la diabetis com en el del risc

cardiovascular; a les meves resis petites per ensenyar-me a ensenyar. A totes elles i al Tonet per compartir espai per treballar, però també per riure.

A tots els companys de Còrcega 180, en especial a la Judith per l'entusiasme, la predisposició i el bon rotllo durant la realització d'aquest projecte. A l'equip d'enginyers de la Universitat de Girona i de la Universitat Politècnica de València, gràcies per ensenyar-me la vostra perspectiva, tan imprescindible i complementària amb la nostra.

A l'equip d'Endocrinologia i Nutrició de l'Hospital de Sant Pau per acollir-me amb els braços oberts i donar-me el temps necessari per poder finalitzar aquesta tesi doctoral.

Als meus pares i la meva germana, pel suport incondicional i per ser-hi sempre que necessito consell. Especialment al meu pare, per contagiar-me tímidament l'amor per la Medicina i l'Endocrinologia.

Als meus "coRs" per acompanyar-me en el viatge de la residència i en d'altres de més llunyans però potser no tan exòtics. Gracias, Nacho, por hacer de Comte Borrell un hogar que recuerdo con nostalgia.

Als meus amics de Caldetes, de *Postureo Camping* i de la Uni, que sempre han estat al meu costat. Gràcies per ser la meva àncora i aquella desconexió indispensable per fer camí.

A tu, Laura, per ser-hi sempre i donar-me tot el suport necessari per fer possible aquest projecte. Per ser la millor companya d'aventures, de les viscudes i de les que ens queden per davant.

## FINANCIACIÓN

Esta Tesis Doctoral y los proyectos incluidos en esta se han podido realizar, en parte, gracias a la financiación recibida por diferentes becas y premios:

- Hospital Clínic de Barcelona a través de “Contracte Clínic de Recerca Emili Letang-Josep Font 2021-2023”.
- Associació Catalana de Diabetis a través de “Ajut per la realització d'un master oficial o programa de doctorat 2021” y “Ajut per a la recerca en diabetis modalitat clínica 2018”.
- Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) y la Unión Europea a través del proyecto “PI19/01865”
- Ministerio de Ciencia e Innovación de España a través de las becas PID2019-107722RB-C22 y PDC2021-121470-C22.
- Ministerio de Universidades de España y la Unión Europea a través de Next Generation EU (Margarita Salas).



# ÍNDICE

<b>ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS.....</b>	<b>17</b>
<b>ENUMERACIÓN DE LOS ARTÍCULOS QUE COMPONEN LA TESIS .....</b>	<b>19</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>21</b>
<b>1. LA DIABETES TIPO 1 .....</b>	<b>23</b>
1.1. EPIDEMIOLOGÍA .....	23
1.2. ETIOPATOGENIA .....	23
1.3. TRATAMIENTO.....	24
1.4. COMPLICACIONES CRÓNICAS Y EL PAPEL DEL CONTROL GLUCÉMICO .....	24
1.4.1 Complicaciones microvasculares.....	25
1.4.2 Complicaciones macrovasculares.....	25
<b>2. EL RIESGO CARDIOVASCULAR EN LA DIABETES TIPO 1 .....</b>	<b>26</b>
2.1. ATROSCLEROSIS. DESARROLLO Y PROGRESIÓN.....	26
2.2. EVALUACIÓN Y ESTRATIFICACIÓN DEL RIESGO CARDIOVASCULAR EN LA DIABETES TIPO 1 .....	27
2.3. LA HIPERGLUCEMIA COMO FACTOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR ..	29
2.4. OTROS FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR ESTABLECIDOS ..	31
2.4.1. Tabaquismo .....	31
2.4.2. Hipertensión arterial.....	31
2.4.3. Dislipemia.....	31
2.4.4. Enfermedad renal diabética .....	32
2.4.5. Edad al debut de la diabetes .....	33
2.5. OTROS FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EMERGENTES ....	33
2.5.1. Factores no glucémicos.....	33
2.5.1.1. Dieta.....	33
2.5.1.2. Sedentarismo .....	34
2.5.1.3. Obesidad y resistencia a la insulina.....	34
2.5.1.4. Inflamación de bajo grado .....	35
2.5.1.5. Autoinmunidad cardiaca .....	35
2.5.2. Otros factores glucémicos: más allá de la hiperglucemia.....	35
<b>3. LA HIPOGLUCEMIA Y SU PAPEL COMO FACTOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN LA DIABETES TIPO 1 .....</b>	<b>36</b>
3.1. EPIDEMIOLOGIA .....	36
3.2. POTENCIAL EFECTO DELETÉREO A NIVEL CARDIOVASCULAR .....	37
3.3. ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN DE LA HIPOGLUCEMIA .....	38

<b>4. TECNOLOGIA APLICADA A LA DIABETES. USO PARA LA PREVENCIÓN DE HIPOGLUCEMIAS</b> .....	<b>40</b>
4.1. INFUSOR SUBCUTÁNEO CONTINUO DE INSULINA .....	40
4.1.1. Concepto .....	40
4.1.2. Efectividad y seguridad. Evidencia en prevención de hipoglucemias .....	40
4.1.3. Indicaciones .....	42
4.2. MONITORIZACIÓN CONTINUA DE LA GLUCOSA .....	42
4.2.1. Concepto y tipos .....	43
4.2.2. Uso en combinación con múltiples dosis de insulina. Evidencia en prevención de hipoglucemias .....	45
4.2.3. Uso en combinación con infusión subcutánea de insulina sin funciones avanzadas. Evidencia en prevención de hipoglucemias .....	47
4.2.4. Sistemas integrados bomba-sensor con funciones avanzadas. Evidencia en prevención de hipoglucemias .....	48
4.3. EL CONTROL AUTOMÁTICO DE LA INFUSIÓN DE INSULINA .....	48
4.3.1. Introducción a los sistemas automáticos de infusión de insulina .....	49
4.3.1.1. Algoritmo de control y tipos .....	50
4.3.2. Sistemas híbridos de lazo cerrado .....	51
4.3.2.1. Primeros sistemas comercializados en Europa .....	51
4.3.2.2. Sistemas de código abierto o <i>do-it-yourself</i> .....	57
4.3.2.3. Efectividad en control glucémico y prevención de hipoglucemias .....	58
4.3.3. Paso hacia un sistema de lazo completamente cerrado .....	59
4.3.4. El uso coadyuvante de glucagón: sistemas bihormonales .....	60
4.3.5. El uso de otros fármacos coadyuvantes para optimizar el control glucémico .....	61
<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>63</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>67</b>
<b>MATERIAL, MÉTODOS Y RESULTADOS</b> .....	<b>71</b>
<b>Artículo 1:</b> Los marcadores de consumo de ácidos grasos de la dieta se asocian con la aterosclerosis preclínica en pacientes con diabetes tipo 1 .....	73
<b>Artículo 2:</b> La exposición a hiperglucemia e hipoglucemia medida por monitorización continua de glucosa se asocia de manera distinta a las complicaciones micro y macrovasculares en personas con diabetes tipo 1 .....	87
<b>Artículo 3:</b> Las hipoglucemias graves y/o desapercibidas se asocian con la aterosclerosis preclínica en pacientes con diabetes tipo 1 sin alto riesgo cardiovascular .....	97
<b>Artículo 4:</b> Efectividad de la monitorización flash de la glucosa en pacientes con diabetes tipo 1 e hipoglucemia recurrente .....	111
<b>Artículo 5:</b> Seguridad y eficacia del sistema híbrido de lazo cerrado jAP en pacientes con diabetes tipo 1 y alto riesgo de hipoglucemia .....	121

<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>131</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>147</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>151</b>

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

<b>Figura 1.</b> Factores de riesgo cardiovascular en la población con diabetes tipo 1 .....	<b>29</b>
<b>Figura 2.</b> Mecanismo fisiopatológico propuesto para el desarrollo de aterosclerosis asociado a la exposición a la hipoglucemia .....	<b>38</b>
<b>Figura 3.</b> Sistemas de monitorización continua de glucosa disponibles en Europa. ...	<b>44</b>
<b>Figura 4.</b> Objetivos glucométricos generales recomendados en sujetos con diabetes tipo 1.....	<b>45</b>
<b>Figura 5.</b> Tipos de algoritmos de control utilizados en los sistemas automáticos de infusión de insulina .....	<b>49</b>
<b>Figura 6.</b> Sistemas híbridos de lazo cerrado comerciales disponibles en Europa.....	<b>52</b>



## ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

### A:

ADA: *American Diabetes Association*

AG: ácido graso

AHA: *American Heart Association*

AID: *automated insulin delivery* o sistemas automáticos de administración de insulina

AL: ácido linoleico

AMGC: auto-monitorización domiciliar de la glucemia capilar

### C:

CAC: calcio arterial coronario

CACTI: *Coronary Artery Calcification in Type 1 Diabetes*

### D:

DCCT: *Diabetes Control and Complications Trial*

DIY: *do-it-yourself*

DT1: diabetes tipo 1

DT2: diabetes tipo 2

### E:

ECV: enfermedad cardiovascular

EDC: *Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications*

EDIC: *Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications*

ERD: enfermedad renal diabética

ESC: *European Society of Cardiology*

### F:

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos

FLC: *fuzzy logic control* o control basado en lógica difusa

### G:

GMI: *glucose management indicator*

GRI: *glycemia risk index*

### H:

HG: hipoglucemia grave

HTA: hipertensión arterial

**I:**

IAM: infarto agudo de miocardio

ISCI: infusor subcutáneo continuo de insulina

iSGLT2: Inhibidores de SGLT2

**M:**

MCG: monitorización continua de la glucosa

MCG-TR: monitorización continua de la glucosa a tiempo real

MDI: múltiples dosis de insulina

MFG: monitorización *flash* de la glucosa

MPC: Control predictivo basado en modelo

**P:**

PAH: percepción alterada a la hipoglucemia

PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno-1

PCRus: PCR ultrasensible

PID: proporcional-integral-derivativo

PLGS: *predictive low glucose suspend* o parada en predicción de hipoglucemia

**R:**

RCV: riesgo cardiovascular

**S:**

Steno-risk: *Steno T1 Risk Engine*

**T:**

TAR: *time above range* > 180 mg/dL o tiempo por encima de 180 mg/dL

TBR < 54: *time below range* < 70 mg/dL o tiempo por debajo del rango < 54 mg/dL

TBR < 70: *time below range* < 70 mg/dL o tiempo por debajo del rango < 70 mg/dL

TIR: *time in range* 70-180 mg/dL o tiempo en rango 70-180 mg/dL

**V:**

VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular

## ENUMERACIÓN DE ARTÍCULOS QUE COMPONEN LA TESIS

Tesis en formato compendio de artículos.

Esta tesis doctoral consta de 5 objetivos y 5 artículos:

1. Artículo correspondiente al Objetivo 1:

**Mesa A**, Cofán M, Esmatjes E, et al. Biomarkers of fatty acid intake are independently associated with preclinical atherosclerosis in individuals with type 1 diabetes. Eur Journal Nutr 2021;60(8):4595-4605.

FACTOR IMPACTO (2021): **4.865**; Q2 Nutrición y dietética (JCR), Q1 Nutrición y dietética (SJR).

2. Artículo correspondiente al Objetivo 2:

**Mesa A**, Giménez M, Pueyo I, et al. Hyperglycemia and hypoglycemia exposure are differentially associated with micro- and macrovascular complications in adults with Type 1 Diabetes. Diabetes Res Clin Pract. 2022;189:109938.

FACTOR IMPACTO (2022): **5.100**; Q2 Endocrinología y metabolismo (JCR), Q1 Endocrinología, diabetes y metabolismo (SJR).

3. Artículo correspondiente al Objetivo 3:

**Mesa A**, Giménez M, Perea V, et al. Severe hypoglycemia and hypoglycemia awareness are associated with preclinical atherosclerosis in patients with type 1 diabetes without an estimated high cardiovascular risk. Diabetes Metab Res Rev. 2024;e3785.

FACTOR IMPACTO (2022): **8.000**; Q1 Endocrinología y metabolismo (JCR), Q1 Endocrinología, diabetes y metabolismo (SJR).

4. Artículo correspondiente al Objetivo 4:

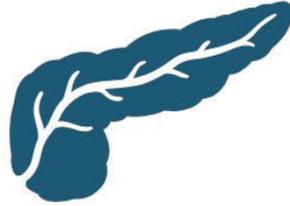
Contreras M, **Mesa A**, Pueyo I, et al. Effectiveness of flash glucose monitoring in patients with type 1 diabetes and recurrent hypoglycemia between early and late stages after flash glucose monitoring initiation. J. Diabetes Complications. 2023;37(8):108560.

FACTOR IMPACTO (2022): **3.300**; Q3 Endocrinología y metabolismo (JCR), Q2 Endocrinología, diabetes y metabolismo (SJR).

5. Artículo correspondiente al Objetivo 5:

**Mesa A**, Beneyto A, Martín-SanJosé J, et al. Safety and performance of a hybrid closed-loop insulin delivery system with carbohydrate suggestion in adults with type 1 diabetes prone to hypoglycemia. *Diabetes Res Clin Pract.* 2023;205:110956.

FACTOR IMPACTO (2022): **5.100**; Q2 Endocrinología y metabolismo (JCR), Q1 Endocrinología, diabetes y metabolismo (SJR).



# INTRODUCCIÓN

---



## **1. LA DIABETES TIPO 1**

La diabetes tipo 1 (DT1) es una enfermedad crónica de origen autoinmune caracterizada por el déficit de producción de insulina tras la destrucción progresiva de las células  $\beta$  pancreáticas, que se traduce en la elevación de las cifras de glucemia y el requerimiento de insulina exógena.

### **1.1 EPIDEMIOLOGÍA**

La DT1 es la forma más común de diabetes en la infancia y adolescencia y presenta un pico de incidencia entre los 10-14 años de edad, aunque puede presentarse a cualquier edad. La incidencia varía notablemente según la región geográfica, con las mayores cifras reportadas en Finlandia (52,2 casos por 100.000 habitantes y año, en niños menores de 14 años) (1). En nuestra área geográfica se diagnostican entre 12 y 14 nuevos casos por cada 100.000 habitantes y año (2).

De manera global, la incidencia de la DT1 está aumentando, con un incremento anual superior al 3% y con recientes estimaciones que señalan que la prevalencia mundial de la enfermedad se duplicará en los próximos 20 años (3).

### **1.2 ETIOPATOGENIA**

La DT1 resulta de la destrucción de las células  $\beta$  del páncreas mediada por el sistema inmune (1). Este proceso ocurre en sujetos genéticamente susceptibles, probablemente desencadenado por uno o más agentes ambientales y generalmente progresa durante muchos meses o años, durante los cuales el sujeto está asintomático y euglucémico. La etiopatogenia se puede clasificar en 3 fases: la fase 1 se caracteriza por la presencia de autoanticuerpos y la ausencia de hiperglucemia; la fase 2 se caracteriza por la aparición de hiperglucemia sin clínica asociada; y la fase 3 corresponde a la fase sintomática de la enfermedad (1). Este largo período de latencia es un reflejo de la gran cantidad de células  $\beta$  funcionales que deben perderse antes de que se produzca la hiperglucemia.

El riesgo genético se define por la presencia de combinaciones particulares de alelos, que en el locus de susceptibilidad principal (la región HLA) afectan el reconocimiento de las células T y la tolerancia a antígenos exógenos (1). Otros muchos loci también regulan y afectan respuestas inmunes específicas y modifican la vulnerabilidad de las células  $\beta$  a los mediadores inflamatorios. En comparación con los factores genéticos, los factores ambientales que afectan el desarrollo de la DT1 están menos caracterizados, pero el contacto con microorganismos particulares parece ser

un factor importante. Otros factores como la microbiota intestinal, que participa en la educación del sistema inmunológico en desarrollo, y la nutrición también parecen estar asociados.

### **1.3 TRATAMIENTO**

El manejo de la DT1 requiere la estrecha colaboración de un equipo interdisciplinario, que incluye médicos, enfermeras educadoras en diabetes, dietistas, psicólogos y trabajadores sociales, junto con el paciente y su familia, así como los sistemas de apoyo (como la escuela o el trabajo). El objetivo es promover un estilo de vida saludable, incluyendo dieta y ejercicio, y mantener un correcto control glucémico para prevenir complicaciones agudas como la hipoglucemia grave, la hiperglucemia grave y la cetoacidosis. Asimismo, la publicación del ensayo clínico *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT) (4) en 1993 demostró que el control intensivo de la glucemia es esencial para prevenir o retrasar la aparición de complicaciones crónicas. Las diferencias no solo se atribuyeron al tratamiento intensivo con insulina, ya sea mediante múltiples inyecciones diarias o con infusores subcutáneos continuos de insulina (ISCI), sino también al monitoreo más frecuente de la glucemia y al contacto más frecuente con el equipo médico. A pesar de su tamaño, la calidad del estudio DCCT y de su continuación con el estudio *Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications* (EDIC) (5), lo convierten en el estudio más paradigmático de la relación entre la DT1 y las complicaciones asociadas a la enfermedad.

### **1.4 COMPLICACIONES CRÓNICAS Y EL PAPEL DEL CONTROL GLUCÉMICO**

El descubrimiento de la insulina hace ya más de 100 años, y su posterior comercialización a gran escala, logró convertir la DT1 en una enfermedad crónica, cuando hasta la fecha se trataba de una enfermedad con una esperanza de vida aproximada de 2 años tras el diagnóstico (6). El efecto deletéreo de la hiperglucemia crónica sobre los tejidos es complejo e incluye un aumento del flujo a través de las vías de los polioles y las hexosaminas, una mayor formación de productos finales de glicación avanzada y especies reactivas de oxígeno, y la activación de la proteína quinasa C (1). En este sentido, el aumento de la esperanza de vida conllevó la aparición de las complicaciones derivadas de la hiperglucemia crónica, clasificadas tradicionalmente en microvasculares (retinopatía, enfermedad renal y neuropatía) y macrovasculares (cardiopatía isquémica, enfermedad cerebrovascular y arteriopatía periférica) (1).

Pese a un descenso de mortalidad en los últimos años (7), el diagnóstico de DT1 acorta la esperanza de vida en unos 10-12 años (8), más aún en aquellos en los que la enfermedad se diagnostica en la primera década de la vida y en las mujeres (9). Las complicaciones crónicas representan la principal causa de morbimortalidad de esta población en la actualidad y su aparición suele ocurrir a los 10-20 años de evolución de la diabetes, siendo el grado y la duración de la hiperglucemia su mayor determinante.

#### **1.4.1 Complicaciones microvasculares**

Respecto a las complicaciones microvasculares, el ensayo clínico DCCT(4) demostró que un control glucémico estricto ( $HbA_{1c}$  7,2% vs. 9,1%) a lo largo de 6 años y medio reducía el riesgo relativo de desarrollar retinopatía en un 76% y ralentizaba su progresión en un 54% en los individuos con DT1 y retinopatía preexistente. Asimismo, demostró que el buen control glucémico mediante tratamiento intensivo con insulina también se asociaba con una reducción del 39% en la incidencia de albuminuria y del 60% en la incidencia de neuropatía clínica. El seguimiento a largo plazo de estos individuos en el estudio EDIC (5) mostró que los efectos beneficiosos de dicha intervención persistían durante muchos años después de la finalización del estudio.

A pesar de que el manejo global de los pacientes con DT1 ha mejorado ostensiblemente tras la publicación del DCCT y con la aparición de los análogos de insulina y la incorporación de la tecnología en el tratamiento, la prevalencia de complicaciones crónicas en esta población sigue siendo muy elevada (10). En este sentido, tanto la retinopatía como la enfermedad renal diabética pueden llegar a estar presentes hasta en un 70% (11) y un 25% (12) de estos pacientes, respectivamente. La progresión de estas complicaciones crónicas puede tener un alto impacto, siendo la principal causa de ceguera (11) y de insuficiencia renal terminal (13) en esta población con DT1.

#### **1.4.2 Complicaciones macrovasculares**

Pese a los resultados observados en el caso de las complicaciones microvasculares, en el ensayo clínico DCCT no se demostró una reducción significativa de las complicaciones macrovasculares asociada al control glucémico estrecho, con un seguimiento medio de 6,5 años. Sin embargo, en el seguimiento a 17 años después del estudio DCCT, el grupo de tratamiento intensivo sí presentó una reducción del 42% del riesgo de presentar un evento cardiovascular y del 57% del riesgo de infarto agudo de miocardio (IAM) no fatal, ictus o mortalidad cardiovascular (14). Estas diferencias seguían vigentes en el seguimiento posterior a 27 años,

observándose, asimismo, una menor mortalidad de cualquier causa en el grupo de tratamiento intensivo (15).

## **2. EL RIESGO CARDIOVASCULAR EN LA DIABETES TIPO 1**

Todos los estudios epidemiológicos publicados hasta la fecha identifican una mayor y más temprana enfermedad cardiovascular (ECV) en la población con DT1, particularmente en aquellos diagnosticados en la primera década de la vida y en las mujeres (9,16). Específicamente, la incidencia de ECV está aumentada entre 4 y 8 veces respecto a la población general (17), y esta representa actualmente su principal causa de muerte.

### **2.1 LA ATEROSCLEROSIS. DESARROLLO Y PROGRESIÓN**

En términos generales, la fisiopatología de la enfermedad aterosclerótica es de naturaleza compleja y progresiva, con una larga fase latente de placas subclínicas (18). El proceso aterosclerótico se inicia cuando los factores de riesgo cardiovascular, a través de un insulto químico, mecánico o inmunológico, activan y/o lesionan el endotelio, contribuyendo así a la disfunción y fragmentación endotelial. En condiciones de homeostasis, la monocapa endotelial que recubre la capa íntima arterial no acumula leucocitos sanguíneos. Sin embargo, cuando se activan por citocinas proinflamatorias u otros estímulos irritativos, las células endoteliales pueden expresar una molécula de adhesión leucocitaria (como VCAM-1) que interactúa con sus ligandos (VLA4) promoviendo la adherencia de monocitos y linfocitos sanguíneos a la capa endotelial (19). Además, las citocinas quimiotácticas pueden dirigir la migración de estos leucocitos unidos hacia la capa íntima. Una vez dentro de la íntima, se forman células espumosas por la captación de lípidos. Algunas de estas células espumosas cargadas de lípidos se originan a partir de monocitos sanguíneos que han madurado en macrófagos, mientras que otras provienen de células musculares lisas de la pared arterial (19). Una vez establecidas, las placas ateroscleróticas progresan mediante la acumulación continua de lípidos y de células espumosas, siendo un proceso desarrollado de manera silenciosa a lo largo de diferentes territorios vasculares, mucho antes de que una estenosis alcance relevancia funcional o se produzca un evento isquémico (20). Considerando que la progresión de la placa aterosclerótica es un paso necesario y modificable entre la aterosclerosis subclínica y un evento cardiovascular agudo, el uso de la terapia hipolipemiente intensiva está justificado en individuos de alto riesgo cardiovascular (RCV) para frenar dicho proceso.

La prevención cardiovascular primaria se basa actualmente en escalas que incluyen los principales factores de riesgo detectados en estudios epidemiológicos,

con el objetivo de identificar aquellos individuos de mayor RCV y que más se pueden beneficiar de un tratamiento intensivo. Aunque el control y optimización de los principales factores de RCV después de un evento cardiovascular ha mejorado ostensiblemente en las últimas décadas, el compromiso en el inicio y mantenimiento de la terapia en los individuos en prevención primaria es mucho más débil, tanto por parte de los profesionales como de los pacientes. Este hecho es evidente incluso en una población de alto RCV como la que padece DT1 (21,22). La comprensión moderna de la aterosclerosis como un proceso progresivo no concuerda con esta dicotomía clínica actual entre una prevención primaria y secundaria, reconociéndose cada vez más la necesidad de detectar la población intermedia, aquel subgrupo considerado actualmente de prevención primaria pero que presentan una aterosclerosis subclínica avanzada con un alto riesgo de progresión (20). Por estos motivos, el uso de técnicas de imagen no invasivas, como la ecografía vascular o la cuantificación del calcio coronario mediante tomografía computarizada, pueden mejorar la estratificación del riesgo definido únicamente mediante escalas de RCV (23).

## **2.2 EVALUACIÓN Y ESTRATIFICACIÓN DEL RIESGO CARDIOVASCULAR EN LA DIABETES TIPO 1**

En un estudio observacional sueco con 34.000 sujetos con DT1, 45% mujeres y con una edad media de 35,8 años, se observó una relación lineal entre el valor de HbA<sub>1c</sub> y la mortalidad global y cardiovascular en esta población (24). Cada aumento de un 1% de la HbA<sub>1c</sub> se asoció con un 22% más de riesgo de mortalidad y de ECV. Pese a eso, los sujetos con aparente buen control (HbA<sub>1c</sub> <7%) mantenían una mortalidad cardiovascular tres veces mayor que la población general. Por tanto, la ECV en la DT1 no es únicamente explicable por el grado de control glucémico, sino que presenta una fisiopatología compleja y multifactorial.

Aunque el determinante más importante de las complicaciones crónicas sea el grado y la duración de la hiperglucemia, los factores de riesgo cardiovascular clásicos, como la hipertensión, la dislipemia o el tabaquismo, también favorecen su aparición y evolución. De hecho, en un análisis de mediación realizado por los investigadores del DCCT/EDIC, se concluye que el 41% del riesgo de ECV atribuible a la hiperglucemia se explicaría por su efecto sobre otros factores de RCV bien establecidos, como las cifras de colesterol LDL, la excreción urinaria de albúmina y la frecuencia cardíaca (25,26).

Dado que se trata de una población con ECV prematura y de origen multifactorial, se han desarrollado varias calculadoras de RCV específicas para la DT1 (27–29). Entre ellas destaca la *Steno T1 Risk Engine* (Steno-Risk), que tiene en cuenta la edad, el sexo, la duración de la diabetes, el control glucémico (mediante la HbA<sub>1c</sub>), las cifras de tensión arterial sistólica, el hábito tabáquico, la albuminuria, la función renal, las cifras de colesterol LDL y la realización de ejercicio físico. El modelo de predicción de dicha calculadora de RCV se asoció de manera significativa con el desarrollo a los 5 años de un primer evento cardiovascular en sujetos con DT1 (29), así como también a la presencia de aterosclerosis preclínica (30). Sin embargo, en esta última cohorte con 501 pacientes, no todos los pacientes con aterosclerosis preclínica fueron correctamente categorizados como de alto riesgo mediante el Steno-Risk; el 18,4% de los pacientes categorizados como de bajo riesgo y el 38,2% de los de riesgo intermedio presentaban placas carotídeas.

Por estos motivos, en los pacientes con DT1 no solo es de vital importancia mantener un control glucémico en objetivos, sino que en la prevención de complicaciones macrovasculares también cobra relevancia el control de los principales factores de RCV clásicos y la búsqueda de otros factores asociados todavía no bien dilucidados. Ante esta fisiopatología compleja y multifactorial, el uso rutinario de técnicas de imagen que identifiquen la aterosclerosis preclínica podría contribuir a una mejor identificación de los sujetos de alto riesgo cardiovascular y a la posterior optimización de su tratamiento (31) (Figura 1). En este sentido, la ecografía carotídea permite la visualización de las superficies de la pared y la luz de las arterias carótidas, medir parámetros hemodinámicos y, por lo tanto, cuantificar la gravedad de la aterosclerosis. En comparación con otras técnicas de imagen, la ecografía carotídea presenta varias ventajas: 1) puede llevarse a cabo de manera reproducible debido a su naturaleza simple, no invasiva y económica; 2) puede realizarse con equipos que a menudo ya están disponibles en una consulta de Endocrinología y Nutrición; y 3) no se centra en la luz arterial, sino en la pared arterial, que es el verdadero objetivo de la aterosclerosis. Varios parámetros obtenidos mediante esta técnica, como el grosor de íntima-media carotídeo, la presencia o ausencia de placa carotídea, el número de placas y el área de las placas, han demostrado ser predictores independientes de futuros eventos cardiovasculares (32,33). Además, la visualización de la ECV asintomática mediante la ecografía favorece una mayor intensificación de la prevención cardiovascular por parte de profesionales y una mayor adherencia a las recomendaciones por parte de los pacientes (34). Este hecho es de especial interés

considerando que las tasas de pacientes que reciben tratamiento hipolipemiante y alcanzan los objetivos del tratamiento son bajas (35).

A continuación, se analizará la contribución de la hiperglucemia y de los factores de riesgo clásicos en el desarrollo de aterosclerosis en esta población, así como se revisará la evidencia existente del papel de factores de riesgo emergentes.

**Figura 1: Factores de riesgo cardiovascular en la población con diabetes tipo 1**

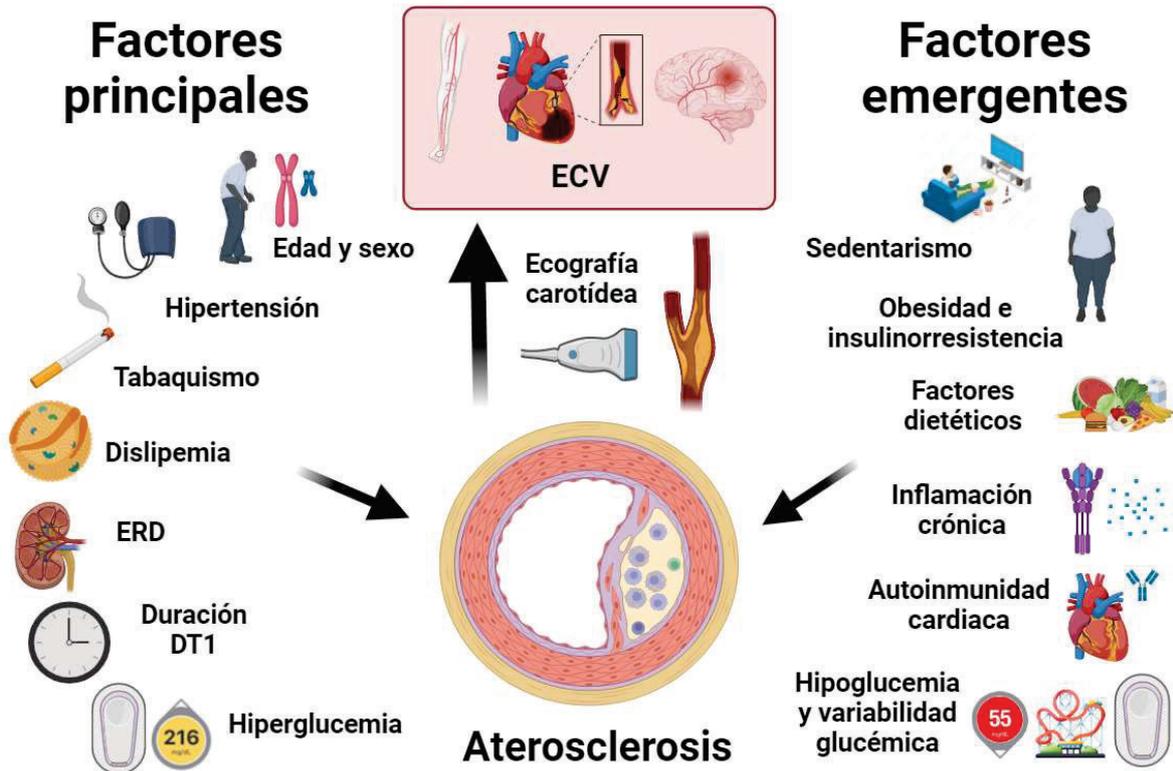


Figura original. La enfermedad cardiovascular (ECV) en los sujetos con diabetes tipo 1 (DT1) es prematura y de origen multifactorial, contando con unos factores de riesgo principales y otros emergentes en estudio. La ecografía carotídea puede ser una herramienta útil para identificar a los sujetos con mayor riesgo cardiovascular.

### 2.3 LA HIPERGLUCEMIA COMO FACTOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR

La hiperglucemia probablemente contribuya al desarrollo de ECV a través de múltiples mecanismos. Primeramente, incrementa a nivel celular la formación de diacilglicerol, un potente activador de la proteína quinasa C. Incrementos de dicha proteína conducen a una mayor producción de: proteína de matriz extracelular (colágeno y fibronectina) y de factor de crecimiento transformante beta, que promueven el engrosamiento de la membrana basal; citoquinas inflamatorias; factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), que incrementa la angiogénesis y la permeabilidad vascular; inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1), que inhibe

la fibrinólisis; especies reactivas de oxígeno, generando un mayor estrés oxidativo en la pared arterial y, a su vez, promoviendo la disfunción endotelial (36).

En segundo lugar, la hiperglucemia activa la vía de los polioles, que convierte el exceso de glucosa intracelular en sorbitol a través de la enzima sorbitol deshidrogenasa, con oxidación concomitante de NADPH a NADP<sup>+</sup>. De este modo, la sobreactivación de la vía de los polioles reduce la concentración intracelular de NADPH, requerido para regenerar el glutatión reducido. Por lo tanto, una mayor activación de la vía de los polioles disminuye todavía más el glutatión reducido, induciendo o exacerbando el estrés oxidativo intracelular, con consecuencias negativas sobre la pared arterial.

En tercer lugar, la hiperglucemia crónica induce la glicación no enzimática de proteínas, lo que da lugar a la formación de productos finales de glicación avanzada, que interactúan con la pared arterial a través de receptores específicos expresados en las células endoteliales. Dichas interacciones desencadenan estrés oxidativo y activación de citoquinas proinflamatorias que, a su vez, generan disfunción y aumento de la permeabilidad del endotelio. Asimismo, también promueven la expresión de endotelina-1, un potente vasoconstrictor producido por las células endoteliales, y reducen la expresión y la actividad del óxido nítrico sintasa, lo que lleva a una disminución de la producción de óxido nítrico, un potente vasodilatador endotelial. Finalmente, los productos finales de glicación avanzada también contribuyen a la aterosclerosis por otros mecanismos: oxidando las LDL y la formación de LDL modificada, estimulando la producción de citoquinas proinflamatorias y la formación de células espumosas y placas de ateroma; promoviendo la trombosis al aumentar la expresión del factor tisular y reduciendo la fibrinólisis al aumentar la expresión de PAI-1; estimulando la activación y proliferación de las células del músculo liso; modificando la matriz extracelular y alterando su recambio, lo que conduce a su disfunción y a una disminución de la flexibilidad arterial (36).

A nivel clínico, en el estudio DCCT/EDIC, el control glucémico fue el factor de riesgo más influyente en la mortalidad por ECV, insuficiencia cardiaca congestiva y ángor (5). Además, se identificó el control glucémico como el segundo factor de riesgo en lo que respecta a IAM y revascularización coronaria, después de la edad. En resumen, el control glucémico fue el factor de riesgo modificable más influyente tanto en el primer evento cardiovascular, ya sea fatal o no fatal, como en eventos cardiovasculares subsiguientes.

## **2.4 OTROS FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR ESTABLECIDOS**

### **2.4.1 Tabaquismo**

Al igual que en la población general, disponemos de evidencia que el hábito tabáquico es un importante factor de riesgo cardiovascular en los individuos con DT1. En el estudio DCCT/EDIC, ser fumador activo fue un factor de riesgo independiente para presentar eventos adversos cardiovasculares mayores (37). De la misma forma, en el estudio *Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications* (EDC), con una cohorte de 604 pacientes sin enfermedad cardiovascular de base y 25 años de seguimiento, el tabaquismo fue un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular y de presentar eventos adversos cardiovasculares mayores (38).

Lejos de ser un hábito residual en una población de alto riesgo cardiovascular, los estudios epidemiológicos señalan que entre el 19 y el 28% de los individuos con DT1 son fumadores (37–39), cifras similares a la población general.

### **2.4.2 Hipertensión arterial**

La hipertensión arterial (HTA) es un factor de riesgo cardiovascular clásico y bien establecido tanto en la población general como en los individuos con DT1. Específicamente, la presión arterial sistólica fue un factor de riesgo independiente para el desarrollo de ECV en el estudio DCCT/EDIC (37) y para presentar eventos adversos cardiovasculares mayores tanto en dicho estudio como en el Pittsburgh EDC (38).

En el estudio *Coronary Artery Calcification in Type 1 Diabetes* (CACTI), con 652 adultos de entre 19 y 56 años con DT1 y 764 controles, se observó una prevalencia más elevada de HTA en los sujetos con DT1 (43% vs 15%) (40). Considerando la elevada prevalencia y la estrecha relación de las cifras de tensión arterial con el RCV, las guías clínicas de las principales sociedades científicas inciden en la importancia de mantener un buen control tensional en esta población (41).

### **2.4.3 Dislipemia**

El control glucémico subóptimo se asocia con alteraciones cuantitativas del perfil lipídico, vía un déficit relativo de insulina, induciendo tanto hipercolesterolemia como hipertrigliceridemia. En el estudio CACTI se observó que incrementos del 1% de HbA1c se asociaban independientemente con elevaciones del colesterol LDL, colesterol no-HDL y triglicéridos de 4,0 mg/dL, 5,0 mg/dL y 4,6 mg/dL, respectivamente (40). Estos hallazgos respaldan que la hiperglucemia es un factor importante en el desarrollo de anomalías cuantitativas del perfil lipídico en la población con DT1.

Aunque la cifra de colesterol LDL fue un factor de RCV independiente para presentar ECV o eventos cardiovasculares mayores en el estudio DCCT/EDIC (5), y para eventos cardiovasculares mayores o revascularización en el Pittsburgh EDC (38), en otros estudios prospectivos como el EURODIAB no predijo el desarrollo de ECV (42). Aunque los motivos detrás de este hecho no estén todavía bien dilucidados, las personas con DT1 presentan también anomalías cualitativas y funcionales en las lipoproteínas que las hacen especialmente aterogénicas y, por tanto, el impacto de dichas lipoproteínas modificadas en la pared arterial podría enmascarar el efecto de los niveles de colesterol LDL. Dichas alteraciones se pueden observar incluso en pacientes con un óptimo control glucémico y se ha sugerido que la vía subcutánea para la administración de la insulina podría jugar un papel importante en este sentido (43).

Pese a la controversia, lo que parece claro es el beneficio asociado del tratamiento hipolipemiante con estatinas en esta población. Un metaanálisis con 1466 pacientes de 11 ensayos clínicos aleatorizados tratados con estatinas observó una reducción relativa del riesgo de eventos cardiovasculares mayores del 21% por cada descenso de 1 mmol/L (38,7 mg/dL) de LDL (44). En base a esto, las guías clínicas de las principales sociedades científicas (41,45) recomiendan la persecución de un control estricto de los niveles de colesterol LDL en la población con DT1.

#### **2.4.4 Enfermedad renal diabética**

Además de ser un marcador subrogado de daño vascular acumulado asociado a la diabetes, la enfermedad renal diabética (ERD) puede promover de forma independiente la enfermedad cardiovascular a través de múltiples mecanismos, como la desregulación de la presión arterial, la retención de toxinas urémicas, la anemia y el metabolismo mineral.

En este sentido, la albuminuria ha sido identificada como un factor de riesgo para presentar ECV en los principales estudios de cohortes que evalúan la incidencia y evolución de las complicaciones crónicas en sujetos con DT1 (5,38,42). De hecho, un análisis del registro nacional sueco con 33.915 pacientes y 8 años de seguimiento identificó un aumento estratificado de la mortalidad cardiovascular según el grado de ERD: *hazard ratio* de 1,9 en pacientes con microalbuminuria, 4,0 ante macroalbuminuria y 10,8 ante enfermedad renal crónica terminal (24). En este sentido, tanto el filtrado glomerular como la presencia de albuminuria fueron identificados como modificadores de riesgo cardiovascular e incluidos en la calculadora de riesgo cardiovascular específica Steno-risk (29).

## 2.4.5 Edad al debut de la diabetes

La edad de inicio de la DT1 es un determinante importante tanto de la incidencia de eventos cardiovasculares como de la supervivencia cardiovascular y global. En la cohorte nacional sueca, con 27.195 individuos con DT1, el *hazard ratio* ajustado por los principales factores de confusión (entre ellos la duración de la diabetes) de presentar ECV en los individuos diagnosticados antes de los 10 años de edad fue de 11,4, frente al 3,9 en aquellos con una edad de inicio entre los 26 y los 30 años (9). En dicho estudio, el diagnóstico de la DT1 antes de los 10 años se asoció con un descenso de la esperanza de vida de 17,7 años en las mujeres y de 14,2 en los varones, mientras que en las personas con diagnóstico tardío los años de vida perdidos fueron cercanos a 10.

## 2.5 OTROS FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EMERGENTES

### 2.5.1 Factores no glucémicos

#### - 2.5.1.1 Dieta

La *American Diabetes Association* (ADA) establece que la terapia nutricional es un pilar del tratamiento para los pacientes con DT1, habiendo demostrado mejorar el control glucémico (46). De hecho, algunos estudios en nuestra área geográfica señalan que los pacientes con DT1 presentan de media un mejor patrón dietético que la población general (47). A modo de prevención cardiovascular, la ADA sostiene que se debe evitar la ingesta de grasas *trans* y remplazar las grasas saturadas por monoinsaturadas y poliinsaturadas (ácidos grasos omega-3 y omega-6). Sin embargo, la evidencia de dicha recomendación se sustenta en la evidencia acumulada en personas con diabetes tipo 2 (DT2) y en población general (48,49).

Se dispone de escasa evidencia acerca del impacto de la dieta sobre la prevención o evolución de las complicaciones crónicas asociadas a la DT1. De hecho, la poca evidencia disponible, proveniente de estudios transversales, ofrece datos aparentemente contradictorios acerca de la relación entre la grasa en la dieta y la presencia de complicaciones micro y macrovasculares. Mientras que en un estudio norteamericano con 571 sujetos con DT1 la cantidad de grasa se asoció con mayor calcio coronario (50), la misma variable se asoció con una menor prevalencia de retinopatía diabética en otro estudio realizado en población mediterránea con 243 sujetos (47). Más allá de las diferencias en las variables analizadas (complicación macro frente a microvascular), la controversia también se podría explicar por diferencias en la composición de la grasa ingerida en ambas poblaciones analizadas:

dieta rica en grasas saturadas en el primer caso y alta en grasas monoinsaturadas en el segundo. A pesar de eso, no disponemos de estudios que evalúen la relación entre la composición de grasas en la dieta y el perfil de riesgo cardiovascular en la población con DT1.

- 2.5.1.2 Sedentarismo

La actividad física es beneficiosa en términos de salud cardiovascular y de control glucémico en sujetos con DT1 (51) y contamos con estudios prospectivos que identifican de manera independiente una menor morbimortalidad cardiovascular en individuos que realizan actividad física (52,53). Pese a que la ADA recomienda un mínimo de 150 minutos de ejercicio físico aeróbico de moderada-alta intensidad a la semana, la prevalencia de sedentarismo en esta población es muy elevada, de hasta el 60% (54). Las dificultades para la práctica de ejercicio físico que todavía confiere el tratamiento insulínico actual, con un riesgo asociado de hipoglucemias, podría ser una explicación para dichos resultados.

- 2.5.1.3 Obesidad y resistencia a la insulina

A pesar de que la DT1 es una enfermedad caracterizada por el déficit absoluto de insulina, el sobrepeso y la obesidad son cada vez más comunes en personas con DT1, con un estudio reciente estadounidense que describe una prevalencia de hasta el 36,8% en esta población. Por este motivo, aunque la resistencia a la insulina sea un rasgo característico de la DT2, cada vez aparece con más frecuencia y de manera concomitante en los pacientes con DT1, en lo que se ha denominado “diabetes doble” (55). Característicamente estos pacientes presentan obesidad central, aumento de los triglicéridos y disminución del colesterol HDL.

El origen de la obesidad en esta población no solo se atribuye al progresivo aumento global de la prevalencia de dicha enfermedad, sino que se cree que otros factores podrían afectar la composición corporal y favorecer la acumulación excesiva de tejido adiposo en los individuos con DT1, como la hiperinsulinemia periférica secundaria al reemplazo no fisiológico de insulina, los perfiles de insulina que no coinciden con las necesidades de insulina basal y prandial o los rescates de hidratos de carbono (HC) para tratar o evitar la hipoglucemia (56).

Marcadores de resistencia a la insulina, como la tasa de disposición de glucosa, se asociaron a más eventos coronarios durante el estudio de Pittsburgh EDC (57). La hipertrigliceridemia, marcador indirecto de resistencia a la insulina, también se asoció a más ECV en el estudio DCCT/EDC y a más cardiopatía isquémica en el estudio EURODIAB. Asimismo, los pacientes con síndrome metabólico presentaron

también un aumento de los eventos cardiovasculares en la cohorte finlandesa FinnDiane (58). De modo interesante, no se observó beneficio cardiovascular con el control estricto de la glucemia durante el estudio DCCT/EDIC en aquellos individuos que presentaron paralelamente una ganancia de peso significativa.

- 2.5.1.4 Inflamación de bajo grado

La proteína C reactiva ultrasensible (PCRus) es el marcador de inflamación de bajo grado más establecido y es un buen predictor del desarrollo futuro de eventos cardiovasculares (59). Las personas con DT1 presentan una elevación de la PCRus (60) y esta se ha asociado con el desarrollo de complicaciones micro y macrovasculares en esta población (61).

- 2.5.1.5 Autoinmunidad cardiaca

Se dispone de evidencia que señala que también podría haber daño miocárdico mediado por autoinmunidad cardiaca en esta población. En un estudio en personas con diabetes y un episodio de infarto miocárdico reciente, se observó una elevación de los niveles de anticuerpos anti-miosina en el 83% de los sujetos con DT1, mientras que estos fueron negativos en sujetos con DT2 (62). Posteriormente, en un análisis del estudio DCCT/EDIC se observó una elevación de la autoinmunidad cardiaca (anticuerpos contra la cadena pesada de la miosina 6 y 7 y contra la troponina) en sujetos con control glucémico subóptimo ( $HbA_{1c} \geq 9\%$ ) (63). La positividad para 2 o más de estos anticuerpos se asoció a una elevación de los niveles de PCRus y, tras 26 años de seguimiento, a mayor calcio coronario y eventos cardiovasculares.

## **2.5.2 Otros factores glucémicos: más allá de la hiperglucemia**

La aparición y uso masivo de los sensores de glucosa intersticial, que permiten obtener datos acumulados de varios días y a lo largo de 24 horas, abrió la posibilidad de obtener con mayor precisión otras métricas de control glucémico no disponibles hasta la fecha. Este hecho ha permitido analizar otros parámetros más allá de la hiperglucemia, como factores de RCV.

El índice de gestión de glucosa o *glucose management indicator* (GMI) es un parámetro derivado de la glucemia media intersticial, que refleja el valor esperado de  $HbA_{1c}$ . Ello permite identificar sujetos denominados “glucosiladores rápidos”, con cifras de  $HbA_{1c}$  superiores a las estimadas por la glucemia media y, por tanto, con un mayor acúmulo de productos de glicación avanzada, determinante de las complicaciones crónicas de la diabetes. Una ratio elevada de  $HbA_{1c}/GMI$  se ha asociado con mayor riesgo de complicaciones macrovasculares en sujetos con DT1 (64).

La variabilidad glucémica también es un parámetro al que se le ha atribuido un posible papel en el desarrollo de enfermedad aterosclerótica en esta población. Contamos con estudios experimentales previos que han demostrado que un incremento en la variabilidad glucémica se asociaba a un aumento de citoquinas proinflamatorias, como IL-6 y TNF-alfa (65), así como a marcadores de estrés oxidativo (66). En este sentido, también contamos con evidencia clínica en la población con DT2, habiéndose relacionado dicho parámetro con la gravedad de la coronariopatía en pacientes ingresados por un IAM (67) y con el riesgo de un nuevo evento CV a lo largo del siguiente año (68). En el caso de la DT1 solo contamos con un análisis del estudio CACTI que muestra una asociación independiente de la variabilidad glucémica con el calcio coronario, aunque dicha relación solo fue observada en varones (69).

Finalmente, otro parámetro que se ha asociado con un mayor riesgo cardiovascular en sujetos con diabetes es la exposición a la hipoglucemia. En el siguiente apartado se discutirá ampliamente la evidencia disponible en cuanto al papel de la hipoglucemia como factor de riesgo cardiovascular en la DT1.

### **3. LA HIPOGLUCEMIA Y SU PAPEL COMO FACTOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN LA DIABETES TIPO 1**

#### **3.1 EPIDEMIOLOGÍA**

Desde la publicación de los resultados del estudio DCCT, se estableció que el control glucémico estricto debía ser el estándar de tratamiento en los pacientes con DT1. Sin embargo, en los años siguientes se observó que la búsqueda de objetivos glucémicos más estrictos se asociaba indefectiblemente a un aumento en el número de episodios de hipoglucemia. De hecho, en la actualidad la hipoglucemia es la complicación más frecuente en los pacientes con DT1 y resulta el principal factor limitante para lograr y mantener un control glucémico óptimo.

Los episodios recurrentes de hipoglucemia se asocian de manera prácticamente inevitable con una percepción alterada a la hipoglucemia (PAH), aumentando el riesgo de presentar hipoglucemias graves (HG), definidas como aquellas en las que es necesaria la ayuda de una tercera persona para su recuperación. Los episodios de HG no solo inciden en la calidad de vida de los pacientes, sino que son causa de convulsiones, coma y arritmias cardíacas (70). Lejos de ser episodios excepcionales, un tercio de los pacientes presentan al menos una HG al año y ocurren casi tan frecuentemente en sujetos con control estrecho como en

aquellos con un control subóptimo (71,72). Asimismo, la HG es la causa del 4-10% de la mortalidad en esta población (73,74).

### **3.2 POTENCIAL EFECTO DELETÉREO A NIVEL CARDIOVASCULAR**

La exposición a la hipoglucemia se ha descrito también como un factor posiblemente relacionado con el desarrollo de aterosclerosis. A pesar de que el mecanismo fisiopatológico no está completamente descrito, estudios experimentales han demostrado el aumento de marcadores inflamatorios y de disfunción endotelial ante situaciones de hipoglucemia aguda, tanto en individuos sanos como en sujetos con DT1 (75,76) (Figura 2). Específicamente, se ha observado, en adultos con DT1 e historia de hipoglucemias de repetición, una dilatación reducida de la arteria braquial mediada por flujo, un aumento del grosor de íntima media en territorio carotídeo y femoral y niveles más altos de marcadores séricos inflamatorios y de disfunción endotelial (leucocitos, factor de Von Willebrand, fibrinógeno e ICAM-1) (77). Asimismo, se ha observado que dicha inflamación se mantiene, por lo menos, después de una semana del episodio de hipoglucemia (78).

Respecto al desarrollo clínico de ECV vinculado a la hipoglucemia, la mayor evidencia también la encontramos en pacientes con DT2, con estudios que señalan una mayor mortalidad y RCV ante HG de repetición (79). A nivel de la DT1 la evidencia clínica existente es contradictoria, por lo que el papel real de la hipoglucemia en el desarrollo clínico de aterosclerosis en esta población todavía está por dilucidar. Por una parte, la HG fue un factor independiente asociado a una puntuación de calcio arterial coronario (CAC) elevado a lo largo del estudio DCCT/EDIC en sujetos con HbA<sub>1c</sub> <7,5% (80), así como un factor de riesgo de desarrollar cardiopatía isquémica en aquellos con más de 30 años de seguimiento (81). En esta línea, la HG fue un factor de riesgo independiente de ECV en un análisis retrospectivo de un registro nacional de terapia con bomba de insulina que incluía a 1550 pacientes con DT1 (82). Asimismo, la hipoglucemia también se asoció significativamente con un mayor RCV en un estudio retrospectivo de la base de datos *Research Datalink* del Reino Unido, con 3.260 pacientes y una mediana de seguimiento de 5 años (83).

Aunque cada vez se dispone de más evidencia del efecto deletéreo a nivel cardiovascular de la hipoglucemia, cabe señalar también la evidencia contraria existente. En el estudio prospectivo de complicaciones EURODIAB, con una mediana de seguimiento de 7,3 años, no se observó asociación entre tener episodios de HG al inicio del estudio con la incidencia posterior de ECV (84). Sin embargo, la negatividad

de estos últimos resultados podría ser atribuible al análisis de una variable dura en una población joven y con un seguimiento corto.

**Figura 2: Mecanismo fisiopatológico propuesto para el desarrollo de aterosclerosis asociado a la exposición a la hipoglucemia**

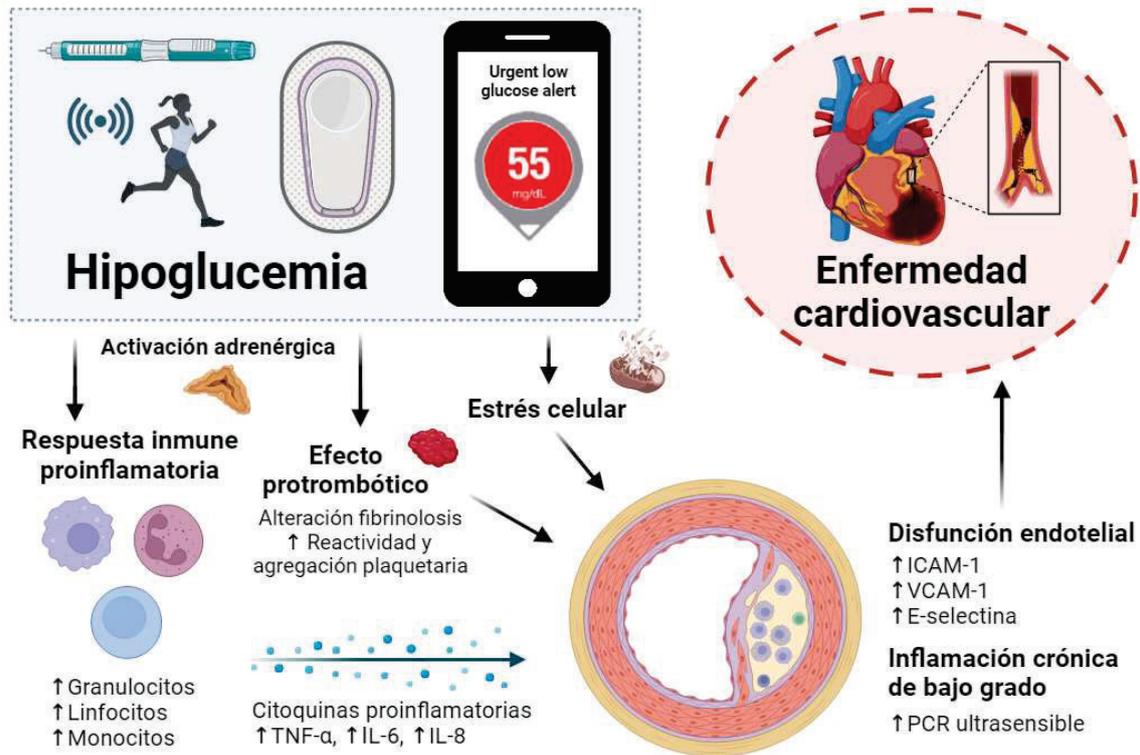


Figura original. PCR: proteína C reactiva.

### 3.3 ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN DE LA HIPOGLUCEMIA

El objetivo final del tratamiento de la DT1 persigue mantener un control glucémico estricto con el menor número de hipoglucemias posible. Además de por los motivos expuestos con anterioridad, cabe señalar que la aparición de hipoglucemias recurrentes también provoca un cambio de conducta tanto en el paciente como en los profesionales sanitarios, con el objetivo de disminuir el riesgo de las mismas. Dichos cambios se asocian inevitablemente con la relajación de los objetivos terapéuticos y consecuentemente con un empeoramiento del control glucémico. Por tanto, es primordial la prevención de las hipoglucemias en los sujetos con DT1, especialmente en aquellos individuos con hipoglucemia desapercibida o HG de repetición.

En este sentido, la educación terapéutica estructurada representa una estrategia básica esencial para reducir la proporción de pacientes con hipoglucemias de repetición. Dichas intervenciones educativas, a menudo grupales y basadas en

estrategias de aprendizaje para adultos, refuerzan el conocimiento de los pacientes en el recuento de HC, el autocontrol frecuente de la glucemia y el ajuste de las dosis de insulina en situaciones de enfermedad, ejercicio o ante la toma de alcohol. Estos programas pueden reducir la incidencia de HG en un 50% y mejorar los niveles de HbA<sub>1c</sub> y de la calidad de vida en pacientes con DT1 e hipoglucemias de repetición. Aunque la educación terapéutica y el contacto frecuente por parte del equipo de diabetes del paciente son estrategias muy efectivas, en muchos casos se requiere de otros cambios en el tratamiento para resolver la hipoglucemia de repetición (85,86).

En las últimas décadas se han desarrollado avances significativos en el tratamiento con insulina para mejorar el perfil farmacocinético y disminuir el riesgo de hipoglucemia. En este sentido, se han efectuado modificaciones de su molécula para sintetizar análogos de insulina: prandiales (lispro, aspart, glulisina, fiasp®) y basales (glargina U-100, detemir, degludec, glargina U-300), que reproducen mejor la secreción fisiológica que la insulina humana regular y la Neutral Protamine Hagedorn (NPH), respectivamente. En concreto, los análogos de acción lenta frente a NPH presentan una duración de acción más prolongada, menor variabilidad, más predictibilidad, lo que les permite mantener el control glucémico con menos hipoglucemias (especialmente nocturnas) (87,88). Respecto a los análogos de acción rápida, estos han demostrado mejoras relativas en el pico postprandial de la glucemia y en la aparición de hipoglucemias tras la ingesta (89).

Considerando la prevalencia y potencial gravedad de los episodios de hipoglucemia, y con el fin prevenir o detectar precozmente hipoglucemias sin aumentar significativamente la exposición a la hiperglucemia, en las últimas décadas también se han desarrollado diversos dispositivos tecnológicos destinados tanto a la monitorización de los niveles de glucemia, incluyendo la monitorización durante 24 horas con alarmas de hipo e hiperglucemia, como a la administración de insulina, permitiendo una mayor precisión y flexibilidad mediante ISCI. Finalmente, el desarrollo de algoritmos que controlan automáticamente la administración de insulina (sistemas AID, del inglés *automated insulin delivery*) para un óptimo control glucémico parece una estrategia prometedora para la prevención de hipoglucemias. En el siguiente apartado, se discutirá toda la evidencia disponible actualmente del uso de la tecnología en control glucémico y prevención de hipoglucemias.

## 4. TECNOLOGÍA APLICADA A LA DIABETES. SU USO PARA LA PREVENCIÓN DE HIPOGLUCEMIAS

### 4.1 INFUSOR SUBCUTÁNEO DE INSULINA

A pesar de la mejoría en el perfil farmacocinético de las insulinas de última generación y su uso en esquemas de tratamiento intensivo con múltiples dosis de insulina (MDI), todavía hay un gran número de personas con DT1 que no alcanzan los objetivos de control glucémico establecidos con esta terapia (90,91). La terapia con ISCI representa una alternativa terapéutica para estos pacientes, permitiendo una mayor precisión sin necesidad de inyecciones repetidas.

#### 4.1.1 Concepto

Los sistemas ISCI son dispositivos portables de pequeñas dimensiones que infunden continuamente insulina rápida, tratando de imitar su producción en condiciones fisiológicas. Para ello, hay una infusión continua en forma de microbolos (patrón o línea basal) y otra en forma de bolos de mayor cantidad, tanto para los momentos de ingesta (bolos prandiales) como para aplicar correcciones ante valores de hiperglucemia (bolos correctores).

Los dispositivos más utilizados son las bombas de infusión subcutánea con catéter, compuestas por un dispositivo que incluye el reservorio de insulina conectado a un catéter por el que dicha insulina transcurre hasta la cánula de administración subcutánea. Como alternativa, también se encuentran comercializadas bombas-parche (del inglés *patch pump*), adheridas a la piel y que prescinden del catéter que enlaza el ISCI con la cánula subcutánea.

#### 4.1.3 Efectividad y seguridad. Evidencia en prevención de hipoglucemias.

A lo largo de los últimos 40 años se ha publicado extensamente sobre la eficacia, seguridad, impacto en la calidad de vida y el coste-efectividad del tratamiento mediante ISCI. En ausencia de ensayos clínicos aleatorizados robustos para pacientes con hipoglucemias de repetición, la evidencia proviene mayoritariamente de metaanálisis, no estando ésta exenta de controversia. En un primer momento, se puso en entredicho el beneficio de la terapia con ISCI, tras la publicación de un metaanálisis que no evidenciaba diferencias significativas en reducción de hipoglucemias frente a MDI y sólo observaba una mínima mejoría del control glucémico ( $HbA_{1c}$   $-0,2\%$ ) (92). Sin embargo, los estudios incluidos que comparaban MDI frente a ISCI mostraban una alta heterogeneidad, con poblaciones, dispositivos e insulinas diferentes, así como inclusión de estudios de corta duración. En este sentido, los resultados de otros

metaanálisis fueron distintos. En uno de ellos, en el que se incluyeron 976 personas con DT1 de 23 ensayos clínicos aleatorizados, el uso de ISCI en comparación con MDI se asociaba a un riesgo 4 veces menor de HG, así como también a una discreta mejoría del control glucémico (descenso de -0,3% en la cifra de HbA<sub>1c</sub>) (93). En otro, el tratamiento con ISCI demostró una disminución de la tasa de HG en aquellos pacientes en tratamiento con MDI con más episodios de HG y más tiempo de evolución de la DT1 y una reducción significativa de la HbA<sub>1c</sub> en aquellos pacientes que partían de una mayor HbA<sub>1c</sub> con este tipo de tratamiento (94). Podríamos deducir de estos resultados que los beneficios del uso de ISCI son más patentes en aquellas personas con DT1 en las que existe un motivo clínico para el inicio de este tipo de tratamiento. Sin duda, el éxito del uso de ISCI solo puede asegurarse si va asociado a un programa de educación estructurado y diseñado para este tipo de terapia (95).

En los últimos años también se han publicado los resultados de registros nacionales y estudios de cohortes poblacionales de pacientes usuarios de ISCI incluyendo niños, adolescentes y adultos. En ellos se pone de manifiesto que el uso de este tipo de terapia se asocia a reducciones significativas de las cifras de HbA<sub>1c</sub>, a una menor frecuencia de hipoglucemias no graves y graves y a menor riesgo de presentar cetoacidosis diabética (96,97).

El impacto del tratamiento con ISCI (frente a MDI) sobre la aparición de complicaciones crónicas ha sido escasamente estudiado. Aunque en el estudio DCCT existía un grupo de pacientes tratados con ISCI, el escaso número de participantes con esta modalidad de tratamiento impidió extraer conclusiones al respecto. En 2015, Steineck *et al.* abordaron el impacto en mortalidad cardiovascular de este tipo de terapia, analizando casi 20.000 pacientes con DT1 incluidos en el *Registro Sueco de Diabetes* y seguidos durante una media de 7 años (98). La comparación entre la cohorte en terapia ISCI (2.441 individuos) frente a la tratada con MDI (15.727 individuos), demostró una disminución clínicamente relevante del riesgo de mortalidad por ECV, por enfermedad coronaria y por todas las causas, favorable a ISCI. Pese a las limitaciones por su diseño observacional, los resultados son plausibles desde el punto de vista fisiopatológico (disminución del número de HG y mejora en la HbA<sub>1c</sub> asociado al uso de ISCI) y podrían tener un gran impacto clínico. En otro estudio retrospectivo realizado en Escocia, con más de 200 pacientes que iniciaron ISCI frente a un grupo control (tributarios de ISCI pero que recibían MDI), se evidenció una menor proporción de progresión de retinopatía diabética durante el seguimiento en el grupo de ISCI, especialmente en aquellos con peor HbA<sub>1c</sub> de partida (99).

#### **4.1.2 Indicaciones**

En nuestro medio, el *Servei Català de la Salut*, la terapia con ISCI está cubierta bajo financiación pública en las siguientes indicaciones clínicas: 1) hipoglucemias desapercibidas o HG de repetición; 2) control metabólico subóptimo a pesar de tratamiento con MDI con imposibilidad para mantener  $HbA_{1c} < 7,5\%$  sin hipoglucemias, 3) dificultades en el control glucémico nocturno, 4) control pregestacional, 5) complicaciones microvasculares precoces con rápida progresión, 6) alergia a la insulina o lipoatrofia severa, y 7) horarios muy variables. A pesar de estas indicaciones y de la falta de consecución de un control óptimo de la glucemia en un gran número de pacientes, en una muestra representativa de personas con DT1 en España el uso promedio de ISCI fue del 20% (100).

Las guías clínicas británicas recogían en 2019 que se debía ofrecer el uso de tecnología aplicada para la diabetes en individuos con DT1 que, pese a una educación diabetológica optimizada, presenten hipoglucemias de repetición o un mal control glucémico (101). En este sentido, la irrupción en la última década de la monitorización continua de glucosa (MCG), y su más reciente uso masivo tras la financiación por el sistema público de salud, probablemente ha modificado la posición de la ISCI en el algoritmo de tratamiento del paciente con DT1 e hipoglucemias de repetición o control subóptimo, extendiendo durante más tiempo el uso de las MDI y retrasando el inicio de ISCI. Sin embargo, la gran mejora en control glucémico observada con los nuevos sistemas AID, que integran los datos de MCG y administran de manera automatizada la insulina (ver más adelante) (102), podrían cambiar el paradigma de tratamiento en los próximos años y aumentar exponencialmente el uso de ISCI en esta población.

#### **4.2 MONITORIZACIÓN CONTINUA DE LA GLUCOSA**

La posibilidad de realizar auto monitorización domiciliaria de la glucemia capilar (AMGC) supuso un gran avance para los pacientes con DT1, permitiendo llevar a cabo los ajustes necesarios del tratamiento en cada situación y a los profesionales comprobar la eficacia y seguridad del mismo. Sin embargo, mientras que en algunos casos los resultados puntuales y discontinuos aportados por la AMGC son suficientes en número para conseguir un control glucémico satisfactorio, en otros la información parcial que nos proporcionan no nos permite ni tan siquiera aproximarnos a los objetivos de control perseguidos. Por otro lado, es evidente también el efecto negativo en la calidad de vida que conlleva la realización repetida de una punción en el dedo para la AMGC.

Así pues, la aparición de dispositivos que permitían obtener la información continua de las cifras de glucosa en la práctica clínica habitual mediante el uso de sistemas mínimamente invasivos y portátiles, como la MCG, supuso a principios de este siglo una de las mayores innovaciones tecnológicas en el ámbito de la diabetología. Asimismo, la posibilidad de disponer de alarmas en hipoglucemia y de combinar la MCG con la ISCI mediante sistemas integrados bomba-sensor (SAP, del inglés *sensor-augmented pump*) representó un salto cualitativo en el tratamiento de la población con hipoglucemias de repetición, especialmente cuando dichos sistemas incluyen prestaciones avanzadas como la suspensión de la infusión en predicción de hipoglucemia. A continuación, se revisará el concepto de MCG, los tipos existentes y la evidencia en eficacia junto a MDI o a ISCI (con y sin funciones avanzadas).

#### **4.2.1 Concepto y tipos**

Los sistemas de MCG son dispositivos mínimamente invasivos que miden, cada 1-5 minutos, la cifra de glucosa en el espacio intersticial a través de sensores específicos que en general están colocados en filamentos insertables y utilizan métodos electroquímicos (103). La glucosa intersticial se correlaciona generalmente bien con la glucosa plasmática, aunque cuando los niveles de glucosa aumentan o descienden rápidamente puede haber cierto retraso fisiológico. Esto permite conocer de manera continua los niveles de glucosa obteniendo una cantidad de información muy superior a la obtenida a través de la AMGC.

Los sistemas de MCG a tiempo real (MCG-TR) muestran continuamente en la pantalla del receptor (dispositivo externo específico, aplicación móvil o bomba de insulina) los valores de glucemia y las tendencias, emitiendo alarmas para avisar del riesgo de hipo e hiperglucemia. Por este motivo, estos sistemas son especialmente útiles en las personas con hipoglucemias desapercibidas y/o hipoglucemias de repetición. Aunque actualmente la mayoría vienen calibrados de fábrica, algunos de estos sistemas requerían la realización de calibraciones con glucemia capilar por parte del usuario (número variable según dispositivo). La duración de los sensores utilizados en la MCG-TR oscila entre los 7 y 14 días según el modelo, aunque existe un modelo comercializado que se implanta a nivel subcutáneo y tiene una duración de 6 meses (Eversense® E3). En la Figura 3 se muestran los sistemas MCG-TR comercializados actualmente en Europa.

Posteriormente se desarrolló el sistema de monitorización intermitente o *flash* de la glucosa (MFG), que consiste en un sistema de medición continua con recogida de datos a demanda. Además de proporcionar la cifra de glucosa y la tendencia, los

datos acumulados durante las 8 horas previas son transferidos al escanear con un dispositivo de lectura (receptor o dispositivo móvil). No requieren de calibración, tienen una duración de 14 días y los más recientes cuentan con alarmas de hiper e hipoglucemia (Figura 3). Sus principales ventajas son su pequeño tamaño y un coste económico significativamente inferior, lo que permitió el uso generalizado de este tipo de dispositivos y su financiación por parte de algunos sistemas de Salud.

**Figura 3: Sistemas de monitorización continua de glucosa disponibles en Europa**

							
Tipo de MCG	MFG/MCG-TR	MCG-TR	MCG-TR	MCG-TR	MCG-TR	MCG-TR	MCG-TR
Receptor	App/Receptor	App	App/Receptor (G6: +ISCI)	App/Receptor /ISCI	App/ISCI	App	App
Edad mínima (años)	≥4	≥4	≥2	≥2	≥7	≥18	≥6
Duración sensor (días)	14	14	10	10	7	180. Implantable	14
Calibración	No	No	No	No	No	1/día*	1/día
Warm-up (horas)	1	1	2	0,5	2	24	2
Alarmas	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
MARD	9,2	7,9	9,0	8,2	10,6	8,5	9,7

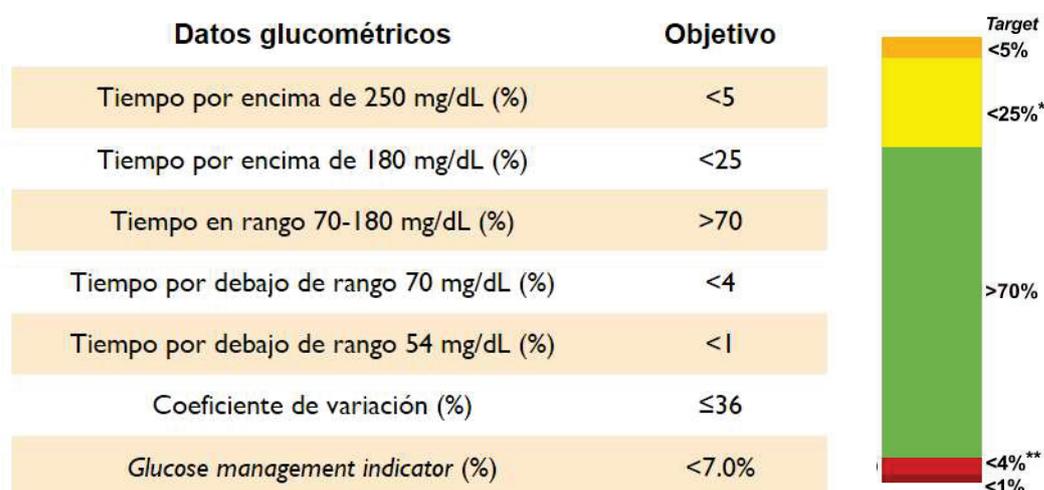
Figura original. MFG: monitorización *flash* de la glucosa. MCG-TR: monitorización continua de la glucosa a tiempo real. App: aplicación móvil. ISCI: infusión subcutánea continua de insulina. MARD: *Mean Absolute Relative Difference*. \*Dos calibraciones al día los primeros 21 de uso.

En nuestro caso, el del *Servei Català de la Salut*, la financiación pública de la MCG para todos los pacientes con DT1 se inició en 2018, siguiendo varias fases consecutivas para su distribución: 1) usuarios de ISCI con hipoglucemias recurrentes, gestantes o niños de hasta 6 años; 2) niños y adolescentes (6 a 18 años); 3) adultos tratados con MDI y con hipoglucemias recurrentes, graves e incapacitantes, o hipoglucemia desapercibida; 4) adultos con mal control metabólico; 5) todos las demás personas con DT1.

Pese a que la HbA<sub>1c</sub> sigue siendo hoy en día el *gold standard* para evaluar el control glucémico crónico, su uso en exclusiva es insuficiente a la hora de modificar de manera óptima y personalizada el tratamiento, ya que no permite estimar el tiempo en hipoglucemia e hiperglucemia, la variabilidad glucémica o la presencia de patrones de

hipo e hiperglucemia. En este sentido, la MCG ha permitido obtener nuevas métricas de control glucémico que aportan este tipo de información y ya disponemos de un consenso para la presentación, lectura e interpretación en términos de objetivos para estas variables (104). En concreto, se recomienda un perfil de glucosa ambulatorio de 14 días para evaluar el control glucémico y el objetivo establecido para la mayoría de los adultos es un tiempo en rango 70-180 mg/dL (TIR) > 70%, con un tiempo por debajo del rango < 70 mg/dL (TBR < 70) < 4% y un tiempo por debajo del rango < 54 mg/dL (TBR < 54) < 1% (Figura 4). El TIR no solo se correlaciona bien con la HbA<sub>1c</sub> (105), sino que empezamos a disponer de evidencia de que también se correlaciona con la presencia de complicaciones microvasculares (106).

**Figura 4: Objetivos glucométricos generales recomendados en sujetos con DT1**



**Adaptado de:** Battelino T, Danne T, Bergenstal RM, Amiel SA, Beck R, Biester T, et al. Clinical targets for continuous glucose monitoring data interpretation: Recommendations from the international consensus on time in range. *Diabetes Care*. 2019;42(8):1593–603.

Finalmente, la valoración de los datos glucométricos también se puede realizar mediante el índice de riesgo glucémico (*Glycemia Risk Index* o GRI), un resumen de un solo número de la calidad de la glucemia, siendo 0 el mejor perfil y 100 el peor (107). La puntuación GRI, que considera los componentes de riesgo de hipoglucemia e hiperglucemia, también se puede distribuir en cinco zonas de riesgo: Zona A (0–20), Zona B (21–40), Zona C (41–60), Zona D (61– 80) y Zona E (81–100).

#### **4.2.2 Uso en combinación con múltiples dosis de insulina. Evidencia en prevención de hipoglucemias**

La MCG-TR ha demostrado frente a la AMGC disminuir la HbA<sub>1c</sub>, mejorar la calidad de vida y disminuir el tiempo en hipoglucemia en personas adultas en tratamiento con MDI y control metabólico subóptimo (108,109). En el ensayo clínico

DIAMOND, la reducción de HbA<sub>1c</sub> a las 24 semanas fue un 0,6% superior en el grupo de MCG que en el grupo control, a partir de una HbA<sub>1c</sub> inicial media de 8,6% (108). En el estudio GOLD, de diseño cruzado, la reducción media de HbA<sub>1c</sub> cuando se utilizó MCG en comparación con el tratamiento convencional fue de 0,43% tras 26 semanas de uso (109). Por lo que respecta a la población con historia de hipoglucemia grave de repetición y/o desapercibida, también contamos con ensayos clínicos específicos en los que se han observado reducciones significativas tanto del tiempo en hipoglucemia como de los episodios de HG (110,111). En el ensayo clínico HypoDE, aleatorizado, multicéntrico, de 6 meses de duración y con 149 participantes con este antecedente, el número de eventos de hipoglucemia se redujo un 72% con la MCG-TR (111).

Respecto a la MFG, el estudio IMPACT en pacientes con DT1 demostró también una reducción del 38% del tiempo en hipoglucemia con el uso de MFG (112,113), sin asociar un empeoramiento del control glucémico en términos de HbA<sub>1c</sub>. A pesar de la disminución en exposición a la hipoglucemia observada, en dicho estudio se excluyeron pacientes con hipoglucemia desapercibida y solo se incluyeron pacientes con buen control glucémico (HbA<sub>1c</sub> ≤7,5%). Esto es de especial relevancia considerando que algunos estudios en vida real han señalado que los pacientes con niveles más altos de HbA<sub>1c</sub> son, de hecho, el grupo con mayor riesgo de presentar HG (114). En este sentido, pese a la relación inversa lineal entre la HbA<sub>1c</sub> y el riesgo de HG observada en el estudio del DCCT (4), con la MCG-TR se ha visto que la relación entre HbA<sub>1c</sub> e hipoglucemia es en forma de J, siendo menor el riesgo de hipoglucemia en los valores de HbA<sub>1c</sub> entre 8,1 y 8,6% (71). Para arrojar algo de luz en este sentido, en el reciente estudio FLASH-UK, que incluyó pacientes con DT1 y control subóptimo (HbA<sub>1c</sub> 7,5-11,0%), no solo se observó una mejora del control glucémico (-0,5% en la HbA<sub>1c</sub> y aumento del TIR en un 9%) sino también una disminución del tiempo en hipoglucemia con el inicio de la MFG (115). Sin embargo, cabe destacar que se excluyeron pacientes con historia de HG. Así pues, los ensayos clínicos existentes con MFG muestran beneficio en términos de tiempo en hipoglucemia, pero las poblaciones estudiadas no son representativas de los pacientes con mayor riesgo de hipoglucemia y tampoco contamos con estudios específicamente dirigidos a esta población.

La implantación masiva de la MFG en países desarrollados y con sistemas públicos de salud también nos ha permitido acceder a información en vida real y en un gran número de pacientes de múltiples países. En general, en estos registros el uso de la MFG se asocia a una discreta mejoría en las cifras de HbA<sub>1c</sub> (116,117), más evidente cuanto mayor es la cifra inicial, y a mejoras en la calidad de vida (118). Se relaciona también con una disminución en el número de HG (117,119) y no graves

(120), así como del número de hospitalizaciones por cetoacidosis diabética (121). Sin embargo, los datos en vida real sobre la efectividad del inicio de la MFG en la resolución de la hipoglucemia en pacientes con hipoglucemia recurrente son escasos. Además, también se requiere información sobre qué pacientes se benefician más del uso de MFG y cuáles necesitarán una mayor optimización para resolver las hipoglucemias recurrentes (por ejemplo, terapia SAP o sistemas AID).

Finalmente, los estudios que comparan la MFG con MCG-TR son escasos, pero han demostrado que la MCG-TR reduce más el tiempo en hipoglucemia tanto en personas con buena percepción (122,123) como en hipoglucemia desapercibida (124).

#### **4.2.3 Uso en combinación de infusión subcutánea continua de insulina sin funciones avanzadas. Evidencia en prevención de hipoglucemias**

El beneficio de la terapia combinada ISCI junto a MCG-TR (*sensor-augmented pump*, SAP) ha sido evaluado en diversos ensayos clínicos. Sus resultados han sido heterogéneos en parte por las características de la población incluida, el grupo de comparación y por el tiempo variable de uso efectivo del sensor (108,125–127).

En uno de los estudios publicados en los que se comparaba ISCI+AMGC con SAP, de diseño cruzado y que incluyó población infantil y adulta, se demostró que el uso combinado de ambos dispositivos disminuía un 0,4% la HbA<sub>1c</sub>, reduciendo además el tiempo en hipoglucemia (127). En otros estudios que compararon ISCI+AMGC con SAP, el beneficio se limitó a individuos con un uso del sensor >70% del tiempo (125). Asimismo, en otro ensayo clínico que evaluaba el inicio de ISCI en pacientes ya usuarios de MCG-TR, se demostró que la terapia combinada aumentaba un 6% el TIR, pero se asociaba también a un aumento del tiempo en hipoglucemia (126). En este último caso, no hubo diferencias en la HbA<sub>1c</sub>, ni en el número de HG, observándose los beneficios fundamentalmente en el periodo diurno (126). En cuanto a evidencia en vida real, en el estudio RESCUE se observó que la financiación pública de la MCG-TR en pacientes con DT1 usuarios de ISCI se asociaba tras 24 meses de uso a una menor incidencia de HG y de miedo a la hipoglucemia, así como a un discreto descenso de la HbA<sub>1c</sub> (7,64% vs. 7,37%,  $p < 0,001$ ) (128).

Finalmente, en un estudio no aleatorizado de tres años de duración se comprobó el impacto de cuatro estrategias de tratamiento en pacientes con DT1: MDI+MCG-TR, SAP, MDI+AMGC e ISCI+AMGC. A pesar de sus limitaciones, los autores concluyeron que el uso de MCG-RT es superior a la utilización de la AMGC a la hora de reducir la HbA<sub>1c</sub> y disminuir el número de hipoglucemias, con independencia del método de administración de la insulina (129).

Respecto al inicio de MFG en usuarios de ISCI, la evidencia es escasa. Sin embargo, cabe señalar que en el ensayo clínico IMPACT, previamente comentado y que demostraba un descenso del tiempo en hipoglucemia tras el inicio de la MFG, no solo incluyó pacientes con MDI sino que el 32% eran usuarios de ISCI (113). Estudios en vida real también avalan el beneficio en términos de control glucémico del inicio de la MFG en usuarios de ISCI (130).

#### **4.2.4 Sistemas integrados bomba-sensor con funciones avanzadas. Evidencia en prevención de hipoglucemias**

La progresiva mejora de los sistemas ISCI permitió la incorporación paulatina de funciones avanzadas en las que la infusión de insulina se modificaba de forma automática según la información transmitida por el sistema de MCG. El primer automatismo que se incorporó fue el sistema *low glucose suspend* (LGS o parada en glucosa baja), capaz de detener la infusión de insulina cuando el valor de glucosa de la MCG-TR es inferior a un valor de glucosa preestablecido de manera personalizada. La duración máxima del LGS estaba preestablecida (2 horas) y el usuario podía interrumpirla en cualquier momento según lo considerara oportuno. El uso de este tipo de sistemas demostró la reducción tanto de la hipoglucemia nocturna (131) como de la hipoglucemia moderada/grave (132).

Posteriormente, el sistema *predictive low glucose suspend* (PLGS, parada en predicción de hipoglucemia) ha aumentado el grado de automatización incorporando algoritmos de predicción en los dispositivos SAP, de forma que la infusión de insulina se detiene antes de llegar al umbral de hipoglucemia configurado por el usuario y se reanuda automáticamente cuando se predice que la situación de riesgo se ha superado. La inclusión de PLGS a la terapia SAP ha demostrado ser eficaz en reducir el tiempo en hipoglucemia sin empeoramiento de la HbA<sub>1c</sub>, tanto en ensayos clínicos (133) como en estudios en vida real (134). Además, también se han mostrado eficaces y seguros en disminuir las hipoglucemias e HG en población de alto riesgo con PAH (135).

### **4.3 EL CONTROL AUTOMÁTICO DE LA INFUSIÓN DE INSULINA**

Considerando toda la evidencia científica generada en el desarrollo de la tecnología aplicada a la diabetes, en el año 2015 Choudhary et al propusieron unas recomendaciones de práctica clínica para resolver la hipoglucemia recurrente. En ellas se proponía un algoritmo de abordaje escalonado: 1) Programas estructurados de educación terapéutica; 2) Uso de tecnología aplicada a la diabetes (ISCI o MCG); 3)

SAP con suspensión en predicción de hipoglucemia; 4) Trasplante de páncreas o de islotes pancreáticos.

Sin embargo, los trasplantes están limitados por las comorbilidades asociadas, el requerimiento de inmunosupresión, la falta de accesibilidad y múltiples contraindicaciones. Dado que un porcentaje no desdeñable de pacientes persisten con hipoglucemias de repetición para lograr un control óptimo, pese al uso de terapia bomba-sensor, el desarrollo de nuevas tecnologías resulta necesario para minimizar el riesgo de hipoglucemias y poder alcanzar los objetivos de control recomendados (136). En este sentido, la irrupción de los sistemas automáticos de administración de insulina representa una estrategia prometedora para este subgrupo de pacientes.

#### 4.3.1 Introducción a los sistemas automáticos de infusión de insulina

Los sistemas AID, también conocidos como sistema de lazo cerrado o páncreas artificial, combinan el uso e información proporcionada por sistemas de MCG con algoritmos de control (Figura 5) que determinan la administración de insulina mediante una bomba de infusión. Dichos algoritmos tratan de mantener en todo momento la glucemia en rango de la normalidad, corrigiendo la hiperglucemia cuando esté presente y evitando en lo posible la aparición de hipoglucemias.

**Figura 5: Tipos de algoritmos de control utilizados en los sistemas automáticos de infusión de insulina**

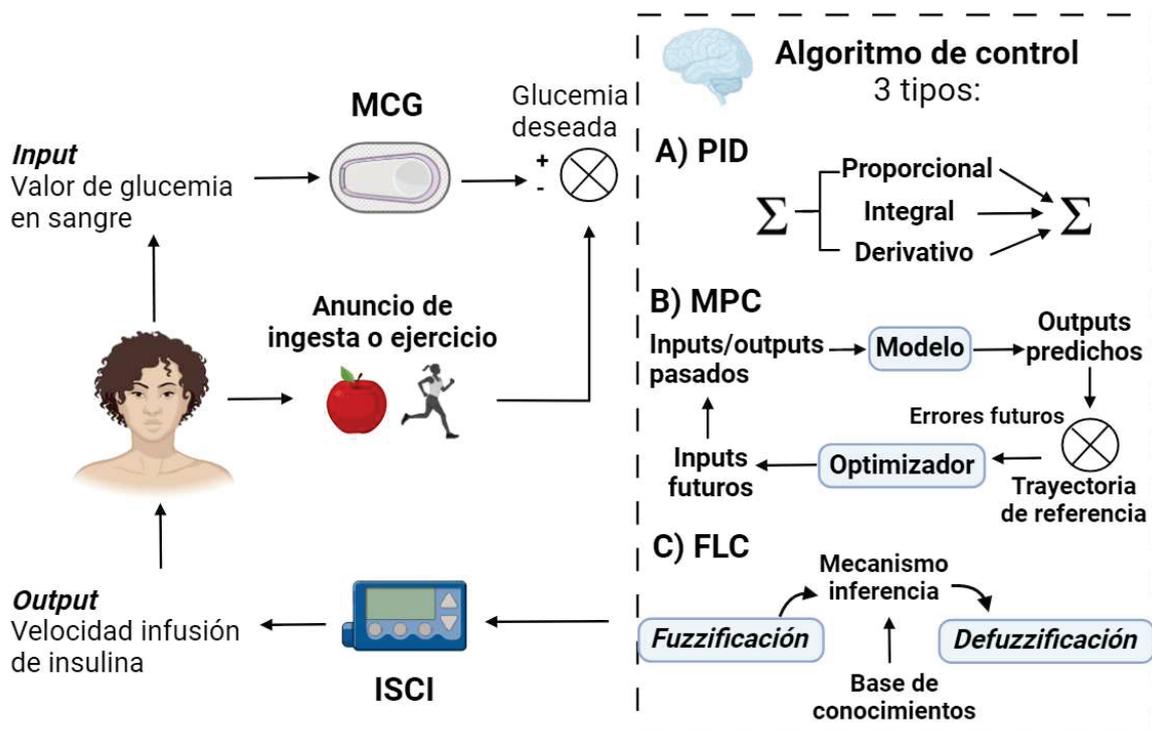


Figura original. MCG: monitorización continua de glucosa. PID: proporcional-integral-derivativo. MPC: predictivo basado en modelo. FLC: *fuzzy logic*. ISCI: infusor subcutáneo continuo de insulina.

#### - 4.3.1.1. Algoritmo de control y tipos

El controlador, o algoritmo de control, es la piedra angular de cualquier sistema AID y se puede encontrar en el mismo dispositivo de infusión de insulina o en un dispositivo externo interconectado con la bomba y el MCG. Con cada nueva medida del MCG, es capaz de computar la infusión de insulina en función de la desviación de la glucosa media medida respecto a la glucosa objetivo.

En los sistemas AID se utilizan principalmente tres tipos de algoritmos de control:

##### 1. Control proporcional-integral-derivativo (PID):

Un algoritmo de control proporcional-integral-derivativo (PID) define su acción evaluando las variaciones de glucosa desde tres perspectivas: 1) desviación de la glucosa objetivo o error actual (componente proporcional (P)), 2) área bajo la curva entre la glucosa medida y la objetivo o error acumulado (componente integral (I)); y 3) tasa de cambio de glucosa medida o tendencia del error (componente derivativo (D)). El controlador PID aumentará o disminuirá la infusión basal de insulina automáticamente en función de las tres acciones anteriormente definidas que, en general, deberán ir en sintonía para evitar efectos de realimentación al cerrar el asa.

Por tanto, el controlador PID administrará más insulina cuanto mayor sea la hiperglucemia, más tiempo se mantenga la glucosa alta y más rápido esté aumentando la glucemia. Por el contrario, administrará menos insulina cuanto más nos acerquemos a la hipoglucemia, cuanto más tiempo se mantenga la glucosa baja, y cuanto más rápido estemos yendo hacia la hipoglucemia.

Un ejemplo de sistemas AID basados en un controlador PID son los de Medtronic, MiniMed™ 670G y 780G (Medtronic, Northridge, Estados Unidos).

##### 2. Control predictivo basado en modelo (MPC)

A diferencia del control PID, que es reactivo, el control predictivo basado en modelo (MPC) predice la evolución de la glucemia en los siguientes minutos (habitualmente 45-60 minutos) y estima en base a dicha predicción el perfil óptimo de infusión de insulina para una mínima diferencia entre el modelo de predicción y el objetivo de glucosa. Por tanto, el óptimo funcionamiento de estos algoritmos reside principalmente en la calidad del modelo de predicción.

Un ejemplo de sistemas AID con un controlador MPC son los sistemas Tandem t:slim X2™ con Control IQ™ (Tandem Inc., San Diego, Estados Unidos), Diabeloop DBLG1® (Diabeloop, Grenoble, Francia), CamAPS® FX (CamDiab, Cambridge, Reino

Unido), Omnipod® 5 (Insulet Corp., Acton, Estados Unidos) e iLet Bionic Pancreas (Beta Bionics Inc., Boston, Estados Unidos).

### 3. Control basado en lógica difusa (FLC, del inglés *Fuzzy Logic*).

Los controladores basados en lógica difusa tratan de expresar matemáticamente la lógica de decisión que aplicaría un experto. Es decir, el algoritmo modula la administración de insulina en base a reglas lingüísticas “si-entonces” que reproducen el conocimiento empírico del diabetólogo experto.

Un ejemplo de sistema AID que está basado en FLC es el sistema MD-Logic, integrado actualmente en el sistema MiniMed™ 780G. Además de mejoras en cuanto a navegación, precisión y exactitud del sensor, conectividad y en la interfaz con el usuario, el hecho más relevante y que lo diferencia del sistema 670G es la incorporación de un algoritmo FLC que permite la administración automática de bolos correctores en caso de hiperglucemia (glucosa > 120 mg/dl y administración de insulina basal máxima). Además, permite modificar el objetivo glucémico a 100, 110 y 120 mg/dL.

## 4.3.2 Sistemas híbridos de lazo cerrado

Todos los sistemas AID o de lazo cerrado comercializados hasta la fecha son híbridos. En el ámbito de los AID, el concepto “híbrido” incluye: 1) el control automático de la infusión de insulina para la consecución de un objetivo glucémico determinado sin que intervenga el usuario; y 2) la participación de este en dos situaciones muy concretas, como la ingesta y la actividad física. En el caso de las comidas, el paciente tiene que introducir la cantidad estimada de hidratos de carbono y darle la orden al dispositivo para que este administre la insulina calculada en forma de bolo. En el caso del ejercicio físico, el paciente debe anunciarlo al sistema de manera anticipada para que éste, por seguridad, cambie el objetivo de glucemia por una cifra más elevada con el fin de evitar hipoglucemias.

### - 4.3.2.1 Primeros sistemas comercializados en Europa

A nivel español, contamos con varios sistemas AID comercializados: MiniMed™ 780G, Tandem t:slim X2™ con Control IQ™, Diabeloop DBLG1® y CamAPS® FX (Figura 6). Sin embargo, actualmente Diabeloop ha suspendido el inicio de nuevos tratamientos. Asimismo, todavía contamos en comercialización el primer sistema AID de Medtronic, MiniMed™ 670G. Pese a que el sistema Omnipod® 5 todavía no ha sido comercializado en España, cuenta ya con el marcado CE y ya está comercializada tanto en Estados Unidos como en varios países europeos (Figura 6).

**Figura 6: Sistemas híbridos de lazo cerrado comerciales disponibles en Europa**

	<b>MiniMed™ 780G</b> 	<b>Tandem Control-IQ™</b> 	<b>Diabeloop DBLG1®</b> 	<b>CamAPS FX®</b> 	<b>Omnipod 5®</b> 
<b>Sistema ISCI</b>	MiniMed™ 780G®	Tandem t:slim X2™	Accu-Chek® Insight	YpsoPump®	Omnipod®
<b>Sistema MCG</b>	Guardian 3®/ Guardian 4®	Dexcom G6®	Dexcom G6®	Dexcom G6®/ FreeStyle Libre 3™	Dexcom G6®
<b>Edad (años)</b>	≥7 años	≥6 años	≥18 años	≥1 año	≥2 años
<b>Algoritmo de control</b>	PID + FLC	MPC	MPC	MPC	MPC
<b>Objetivo de glucosa</b>	100, 110, 120 mg/dL	110 mg/dL	100-130 mg/dL	80-200 mg/dL	110-150 mg/dL
<b>Duración insulina (h)</b>	2-8 h	5 h	Dinámica	2-8 h	2-6 h
<b>Modos temporales (objetivo glucosa)</b>	Objetivo temporal (150 mg/dL)	Ejercicio: 140-160 mg/dL Sueño: 112,5-120 mg/dL	Modo ejercicio (+70 mg/dL) Modo zen (+10 a +40 mg/dL)	Modo "ease-off" Modo "boost"	Modo actividad: 150 mg/dL
<b>Parámetros configurables</b>	RCI Duración insulina Objetivo glucemia	RCI FSI Basal programada	Objetivo glucemia Factor de agresividad Umbral hipoglucemia	Objetivo glucemia RCI	Objetivo glucemia RCI Duración insulina Factor corrección
<b>Particularidades</b>				Uso en embarazo	ISCI sin tubos

Figura original. App: aplicación móvil. ISCI: infusión subcutánea continua de insulina. FLC: *fuzzy-logic controller*. MCG: monitorización continua de glucosa. MPC: control predictivo basado en modelo. PID: Proporcional-integral-derivativo. RCI: ratio carbohidrato-insulina.

### MiniMed™ 670G y 780G

El primer sistema AID para personas con DT1 aprobado y comercializado en Europa fue el sistema MiniMed™ 670G de Medtronic, con la integración del algoritmo SmartGuard™. Dicho sistema calcula de manera automatizada la infusión de insulina basal en respuesta a las lecturas del sensor de glucemia intersticial (Guardian™ Sensor 3) transmitidas cada 5 minutos, incluyendo la interrupción de la administración de insulina para evitar la hipoglucemia. Para activar el modo automático el sistema requiere de un periodo de iniciación en modo manual de 48 horas. Una vez en modo automático, solo se puede modificar la duración de la insulina activa y la ratio insulina/HC. Respecto al nivel de glucemia objetivo, éste está configurado por defecto en 120 mg/dL y sólo se puede modificar temporalmente a 150 mg/dL, cifra recomendada para situaciones de ejercicio físico.

El sistema 670G demostró en un ensayo clínico aleatorizado, a 6 meses y con 120 sujetos, un descenso de HbA<sub>1c</sub> del 0,4% y un aumento del TIR del 15%, respecto a tratamiento con MDI o ISCI (sin MCG) (137). En un estudio en vida real con 3141 pacientes y tras 3 meses de uso del sistema, el mantenimiento en modo automático durante más del 80% del tiempo se tradujo en un 6% de incremento en el TIR con

disminución del TBR y del *time above range* > 180 mg/dL (TAR) (138). Posteriormente, siendo este uno de los inconvenientes del sistema 670G, se publicaron los resultados de un estudio observacional donde se comprueba que a los 12 meses de uso del sistema una tercera parte de los pacientes abandonan el mismo por motivos relacionados con el sensor, sus calibraciones y la repetición de alarmas (139).

El segundo sistema AID de Medtronic aprobado en Europa es MiniMed™ 780G, que inició su comercialización en España a principios de 2021 y ha ido desplazando al modelo previo debido a las mejoras que ofrece. Además de las mejoras sustanciales del nuevo sistema de MCG de Medtronic (Guardian™ Sensor 4) en conectividad y calibraciones (no son necesarias) y en la creación de una aplicación móvil que permite la visualización y carga automática diaria de los datos, el hecho más relevante y que lo diferencia del sistema 670G es la incorporación de un algoritmo FLC que administra automáticamente bolos correctores en caso de hiperglucemia (glucosa > 120 mg/dL e insulina basal del sistema máxima). Además, permite modificar el objetivo glucémico a 100, 110 y 120 mg/dL.

El sistema 780G ha demostrado mejorar el control glucémico respecto a un sistema SAP con PLGS (MiniMed™ 640G) en un ensayo cruzado de 4 semanas, con especial mejora del TIR en el periodo nocturno y cuando el objetivo se establece en 100 mg/dL (TIR  $72,0 \pm 7,9$  % vs.  $64,6 \pm 6,9$  %) (140). Asimismo, en dicho estudio el TBR también mejoró significativamente (-0,4 %). Respecto a 670G, el sistema 780G ha demostrado reducir el TAR > 180 mg/dl durante el día un 3% (37 vs. 34%) sin aumentar el tiempo en hipoglucemia en un ensayo clínico cruzado de 12 semanas de duración en población joven (141). La proporción del tiempo en que el sistema permanecía en modo automático fue un 11% mayor (86 vs. 75%). Finalmente, en un estudio en vida real con 4120 usuarios, la utilización del sistema 780G se asoció con un TIR  $76,2 \pm 9,1$ % y un TBR <70 del  $2,5 \pm 2,1$ % (142).

#### Tandem t:slim X2™ con Control IQ™

El sistema Tandem t:slim X2™ con tecnología Control-IQ™ comprende una bomba de insulina t:slim X2™, el sistema de MCG Dexcom G6® y un algoritmo MPC (Control IQ™) integrado en la bomba, que ajusta automáticamente la infusión de insulina cada 5 minutos en función del valor de glucosa previsto en los próximos 30 minutos. En el modo estándar, el objetivo del algoritmo es mantener la glucemia entre 112,5 y 160 mg/dL. Cuando el valor de glucosa previsto esté dentro del rango objetivo, se administra insulina a la velocidad determinada por el perfil basal personal del paciente. En caso de preverse que los valores de glucemia superen los 160 mg/dL, se

aumenta la infusión de insulina basal, mientras que si se predicen valores de glucosa del sensor superiores a 180 mg/dL el sistema administra un bolo corrector con un objetivo de 110 mg/dL. Si el sistema predice valores inferiores a 112,5 mg/dL se disminuye la insulina basal, interrumpiéndose totalmente la infusión de insulina ante la predicción de una hipoglucemia (hasta que la predicción supere los 70 mg/dL). Pese a no poder individualizar el objetivo de glucemia, este sistema incorpora un modo noche (objetivo de glucemia 112,5-120 mg/dL y ausencia de bolos correctores) y un modo ejercicio (objetivo de glucemia 140-160 mg/dL e interrupción de la infusión ante predicción inferior a 80 mg/dL). Asimismo, a parte del ajuste del perfil basal, también se pueden modificar la ratio insulina-carbohidrato y el factor de corrección.

En un ensayo clínico controlado y aleatorizado a 6 meses que involucró a 168 pacientes con DT1 (de 14 a 71 años), el uso del sistema Tandem Control-IQ™ se asoció con un mayor porcentaje de TIR que el uso de la terapia SAP, aumentando del  $61 \pm 17\%$  al  $71 \pm 12\%$ , mientras que el grupo de control se mantuvo sin cambios (143). La TBR también se redujo significativamente en un  $-0,88\%$  y la HbA<sub>1c</sub> en un  $-0,33\%$ . En un estudio retrospectivo en vida real con 9451 adultos tras 12 meses de uso, se obtuvieron resultados muy parecidos, observándose una mejora en todo el rango de edad y control glucémico, ya desde el primer día (144).

### Diabeloop

Diabeloop DBLG1® se compone de un algoritmo MPC incorporado en un dispositivo externo específico para tal uso, el sistema de MCG Dexcom G6® y un ISCI. Actualmente hay dos modelos de ISCI compatibles con este sistema: Accucheck® Insight (Roche Diabetes CARE, Basilea, Suiza) y Kaleido® (ViCentra, Utrecht, Países Bajos). Esta última es una bomba parche no comercializada actualmente en España.

El algoritmo de control de este sistema regula la administración de insulina cada 5 minutos en base a los valores de glucemia intersticial e incluye la administración de microbolos de autocorrección si la glucemia es superior a 180 mg/dL. Para su inicialización, el sistema requiere del peso del paciente y la dosis total de insulina previa. También es necesario indicar la tasa basal de “seguridad”, aquella que el sistema utilizará únicamente en caso de salida del modo automático al manual. Estas especificaciones iniciales servirán al algoritmo de punto de partida, a partir del cual se irán realizando modificaciones basadas en el autoaprendizaje, con un control optimizado a las 2-4 semanas del inicio del mismo.

Entre los parámetros configurables de este sistema se encuentra la glucemia objetivo (100-130 mg/dL), el umbral de hipoglucemia (60-85 mg/dL) y los factores de

agresividad. Estos últimos determinan la rapidez con la que el algoritmo intenta llevar la glucemia al objetivo predefinido mediante una mayor o menor administración de insulina, ante distintas situaciones: agresividad en hiperglucemia (condiciona los bolos administrados cuando la glucosa es  $> 180$  mg/dL), agresividad en normoglucemia (condiciona la tasa basal proporcionada por el sistema cuando los valores de glucosa están entre 70 y 180 mg/dL), y agresividad en el desayuno, comida y cena (condiciona la cantidad de bolo en cada una de las ingestas). Para simplificar la tarea al paciente, se puede configurar el contenido habitual en HC para cada una de las ingestas principales, así como predefinir ingestas “menores” o “mayores” a lo habitual. Asimismo, incorpora un recomendador de HC para situaciones de riesgo de hipoglucemia. A diferencia de otros sistemas, no es posible configurar la ratio insulina/HC ni el factor de sensibilidad a la insulina. Finalmente, el sistema incorpora un modo para la gestión del ejercicio (el objetivo de glucemia aumenta en 70 mg/dL) y un “modo zen” (ajuste temporal durante 1-8 horas, con un aumento del objetivo de glucemia de 10-40 mg/dL).

En un estudio en adultos con DT1, aleatorizado, cruzado de 12 semanas de duración, el sistema DBLG1<sup>®</sup> ha demostrado una mejora del TIR del 9,2% con una disminución en el tiempo en hipoglucemia, en comparación con terapia SAP (145). En vida real, y con ambas ISCI disponibles, el sistema también ha demostrado su efectividad y seguridad, logrando de media un TIR cercano al 70% (146,147).

Finalmente, Diabeloop también cuenta con un sistema que incorpora un algoritmo específico para pacientes altamente inestables (Diabeloop DBLHU<sup>®</sup>), que ya dispone de marcado CE pero no está disponible en España. En un estudio cruzado con 7 pacientes candidatos a trasplante de islotes pancreáticos o páncreas por DT1 inestable, DBLHU fue superior a la terapia SAP con PLGS en pacientes, tanto en TIR ( $73,3\% \pm 1,7\%$  vs.  $43,5\% \pm 1,7\%$ ;  $p < 0,001$ ) como en TBR  $<70$  ( $0,9\% \pm 0,4\%$  vs.  $3,7\% \pm 0,4\%$ ;  $p < 0,001$ ) (148).

### CamAPS<sup>®</sup> FX

El sistema CamAPS<sup>®</sup> FX consiste de un algoritmo MPC alojado en una aplicación móvil en el *smartphone* del usuario, un sistema de MCG (Dexcom G6<sup>®</sup> o FreeStyle Libre 3<sup>™</sup>) y un dispositivo ISCI. El único ISCI compatible y disponible en España es YpsoPump<sup>®</sup> (Ypsomed Holding, Burgdorf, Suiza), pudiéndose vincular en otros países con las bombas Dana RS y Dana-I (Sooil Development, Seúl, República de Corea).

El sistema necesita para su inicialización el peso del paciente y la dosis total de insulina previa. A partir de entonces, el sistema administra la insulina basal cada 8-12 minutos en base a los valores de glucemia intersticial y al objetivo glucémico establecido, según un modelo predictivo para las siguientes 2,5-4 horas. Pese a que tiene un objetivo de glucemia predeterminado de 104 mg/dL, es posible ajustarlo entre 80 y 198 mg/dL. Asimismo, también es posible modificar la ratio carbohidrato-insulina para las comidas. El algoritmo integra automáticamente la información de los requerimientos diarios y postprandiales de insulina para su continua optimización (autoaprendizaje).

CamAPS® FX integra también dos funciones opcionales que modifican automáticamente el objetivo de glucemia y la administración de insulina. El modo *ease-off* aumenta el objetivo de glucemia y reduce la administración de insulina, para la práctica de ejercicio físico, mientras que el modo *boost* reduce el objetivo de glucemia y aumenta la administración de insulina, para momentos de inactividad, aumento de la ingesta o enfermedad o estrés.

Este sistema ha demostrado en un ensayo clínico aleatorizado de 12 semanas, con 86 individuos con DT1 y control glucémico subóptimo, mejorar un 11% el TIR y disminuir un 0,4% la HbA<sub>1c</sub> frente a terapia SAP(149). Dicha mejoría se acompañó de un discreto descenso del tiempo en hipoglucemia (TBR <70 -0,8%). Su eficacia ha sido probada también en distintas poblaciones específicas, contrastando su eficacia en mayores de 60 años (150), niños de hasta 1 año (151) y en mujeres gestantes (152). De hecho, es actualmente el único sistema AID aprobado a partir del primer año de vida (151) y durante el embarazo, contando recientemente con un ensayo clínico aleatorizado en el que mejoraba el TIR 70-140 a lo largo de la gestación un 10,5% frente a tratamiento convencional (152).

### Omnipod® 5

El sistema Omnipod® 5 está compuesto por un algoritmo MPC alojado en el ISCI, el sistema de MCG Dexcom G6® y la bomba-parche sin tubos Omnipod, que hay que recambiar cada 3 días. En ausencia de pantalla en el ISCI, el sistema puede ser manejado desde una aplicación móvil o desde un receptor externo específico. El algoritmo trabaja con la tecnología SmartAdjust™, que ajusta la administración de insulina cada 5 minutos según su predicción a 60 minutos y en base a los datos de glucemia intersticial, la tendencia, la dosis total de insulina y el objetivo de glucemia establecido (ajustable entre 110 y 150 mg/dL). Para su inicialización requiere del perfil basal previo del paciente, ajustándose automáticamente con cada recambio de la

bomba-parche y en base a los requerimientos de insulina. Asimismo, este sistema permite también el ajuste individualizado de la duración de la insulina activa (2-6 horas), la ratio carbohidrato-insulina para las ingestas y el factor de corrección. También incorpora un modo específico de actividad física, con un objetivo de 150 mg/dL y una menor administración asociada de insulina.

Este dispositivo cuenta con un estudio piloto multicéntrico de 3 meses de duración, en 111 niños y 124 adultos, sin grupo control. En dicho estudio, Omnipod 5 demostró su seguridad y mejoró los niveles de HbA<sub>1c</sub> (-0,7% en niños y -0,4% en adultos) y de TIR (+15,6% en niños y +9,3% en adultos), en comparación con el tratamiento estándar durante las 2 semanas previas al inicio del sistema AID (153). En el caso de los adultos también hubo un discreto descenso del tiempo en hipoglucemia (TBR < 70 2,0 [0,6-4,1] vs. 1,1 [0,5-1,8],  $p < 0,001$ ), manteniéndose este sin cambios en el caso de los niños.

Es el único sistema AID aprobado y vinculado a una bomba-parche sin tubos. Pese a ya estar comercializado en Estados Unidos y algunos países de la Unión Europea, todavía no ha sido comercializado en España.

#### - 4.3.2.2. Sistemas de código abierto o *do-it-yourself*

El lento proceso de aprobación y comercialización de los sistemas AID comerciales, así como las posteriores restricciones para su acceso, promovió la creación de sistemas AID de código abierto, también denominados *do-it-yourself* (DIY). Los algoritmos de estos sistemas fueron creados por una comunidad de pacientes y sus familiares, y posteriormente se liberaron pública y gratuitamente para su uso (y personalización) en pacientes con DT1. Actualmente ya contamos con 3 sistemas de código abierto: OpenAPS, AndroidAPS (algoritmo en plataforma móvil Android) y Loop (algoritmo en plataforma móvil Apple). Estos sistemas son capaces de integrar datos de los principales sistemas de MCG y son compatibles con algunos infusores de insulina (variable según cada sistema DIY).

El uso de estos sistemas ha ido aumentando en los últimos años y ya cuentan con 2.500 usuarios en el mundo y un registro de 55 millones de horas de uso en vida real. Esto ha motivado la creación de guías específicas para profesionales (154) y la evaluación de su rendimiento en un ensayo clínico multicéntrico y aleatorizado. En dicho estudio, de 24 semanas de duración y con 97 sujetos, una modificación del sistema AndroidAPS con el algoritmo de OpenAPS fue superior en TIR a la terapia SAP (71,2±12,1 vs. 54,5±16,0;  $p < 0,001$ ) (155). Asimismo, también fue seguro y no se reportaron efectos adversos graves asociados. También contamos con múltiples

estudios en vida real, que avalan su seguridad y eficacia (156). Finalmente, tanto AndroidAPS como Loop ya han sido aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA).

#### - 4.3.2.3 Efectividad en control glucémico y prevención de hipoglucemias

En los ensayos clínicos aleatorizados en los que se compara el uso de los sistemas híbridos de lazo cerrado con la terapia SAP, los primeros disminuyen la HbA<sub>1c</sub> un 0,15-0,33% y aumentan el tiempo en rango 70-180 mg/dL (TIR) un 9-11%, logrando un TIR promedio cercano al 70% (65,0-71,2%) (157). Los resultados observados en vida real son parecidos (142,144). Asimismo, presentan una clara superioridad frente al tratamiento estándar de la DT1 en nuestro medio (MDI y MCG), habiendo demostrado disminuir la HbA<sub>1c</sub> un 1,4% en pacientes con control glucémico subóptimo previo (102).

Respecto a la superioridad de un dispositivo respecto a otro, apenas disponemos de evidencia por ausencia de ensayos clínicos comparativos entre los distintos sistemas AID híbridos. Un estudio multicéntrico realizado en España y recientemente publicado no observa diferencias significativas entre el sistema MiniMed 780G™ y Tandem t:slim X2™ con Control IQ™ (158).

Pese a que el descenso observado en el tiempo en hipoglucemia en la mayoría de ensayos clínicos apunta también hacia un beneficio para la población con hipoglucemias de repetición, la evidencia específica es escasa en este subgrupo de elevado riesgo. Además, la eficacia y seguridad observadas con estos dispositivos no se debería extrapolar a esta población, dado que los sujetos con historia reciente de hipoglucemias graves y/o la percepción alterada a la hipoglucemia son excluidos (141,145,149) o infrarrepresentados (137,143,159) en la mayoría de ensayos clínicos aleatorizados. Únicamente contamos con pequeños estudios que hayan evaluado estos sistemas específicamente en la población con hipoglucemias de repetición (148,160–162).

A la falta de evidencia en poblaciones con alto riesgo de hipoglucemia se une el rendimiento mejorable de estos dispositivos en situaciones de ejercicio físico (163), una de las principales causas de hipoglucemias en los pacientes con DT1 (164). Aunque algunos sistemas AID tienen la opción de aumentar el objetivo de glucemia e incluso hacer que el algoritmo sea menos *agresivo*, la planificación del ejercicio sigue siendo indispensable con estos ajustes. En este sentido, muchos pacientes optan por salir del modo automático o interrumpir la infusión de insulina en situaciones de actividad física (165,166). Como complicación añadida, el consumo de HC antes del

ejercicio sin asociar bolo de insulina, estrategia clásicamente utilizada para prevenir hipoglucemias, podría provocar un aumento posterior en la administración automatizada de insulina y un riesgo paradójico de hipoglucemia. En un estudio publicado recientemente, el cambio a un sistema AID no alteró los patrones de glucemia en torno al ejercicio de intensidad moderada (167), lo que enfatiza la demanda de nuevas estrategias para el control de la glucemia con estos sistemas durante el ejercicio.

Finalmente, aparte de los aspectos más técnicos del control glucémico, cabe destacar que los sistemas AID ya han demostrado mejorar aspectos psicosociales en los pacientes con DT1 (168). Este es un hecho remarcable y un buen resultado añadido si tenemos en cuenta la carga que conlleva el manejo de la DT1, que a su vez impacta negativamente en la calidad de vida y en los resultados del control glucémico. Por tanto, la búsqueda de la nula intervención del usuario no tiene como único objetivo evitar el error humano, sino también el de disminuir esa carga del tratamiento al paciente y aligerar los múltiples inconvenientes asociados al manejo diario de la DT1.

#### **4.3.3 Pasos hacia un sistema de lazo completamente cerrado**

El desarrollo de un sistema completamente automatizado que prescindiera absolutamente de la intervención del usuario se encuentra obstaculizado por la complejidad del control glucémico. Dicha complejidad radica en una alta variabilidad tanto interindividual (requiriendo personalización) como intraindividual (requiriendo robustez a desviaciones del comportamiento esperado y estrategias de aprendizaje). Asimismo, presenta como dificultades las eventualidades del día a día de los pacientes, como el ejercicio físico o las ingestas, que conforman perturbaciones sobre el sistema con un rápido efecto sobre la glucemia. A estos problemas hay que sumarle la limitación que representa que el controlador de un sistema AID se base en valores de glucemia intersticial (desfase de 5-25 minutos respecto a la venosa, más acusado precisamente ante cambios súbitos de la glucemia) y que su acción se demore por el retraso en la absorción de las insulinas subcutáneas que disponemos actualmente (pico a los 45-60 minutos). Por este motivo, los sistemas comercializados son todavía híbridos, es decir, requieren de la participación del paciente, especialmente para anunciar las ingestas y/o la realización de ejercicio. En este sentido, están bajo desarrollo mejoras en los algoritmos que detecten las ingestas y el ejercicio sin anuncio previo, con la incorporación de la frecuencia cardíaca u otras variables derivadas de la acelerometría, el giroscopio o la respuesta galvánica de la piel (169).

En Estados Unidos ya está aprobado y comercializado un sistema AID (iLet Bionic Pancreas) que minimiza significativamente la intervención del usuario, eximiendo del contaje de hidratos de carbono y que simplifica la inicialización del sistema requiriendo solo el peso del paciente. A nivel de eficacia, ha demostrado en un ensayo clínico aleatorizado de 13 semanas y con 219 individuos un descenso significativo de 0,5% de la HbA<sub>1c</sub> frente a tratamiento estándar, sin apenas tiempo en hipoglucemia (159). Pese al progreso, cabe recordar que con este dispositivo sigue siendo necesario el anuncio de la ingesta, por lo que todavía se considera un sistema híbrido.

En este contexto de innovación y búsqueda de fórmulas para un mejor rendimiento y una menor intervención del usuario, la compañía Beta Bionics también tiene bajo desarrollo un sistema bihormonal (Bihormonal iLet Bionic Pancreas). Parece que, a la espera de potenciales mejoras tecnológicas (por ejemplo, en el algoritmo, en la cinética de las insulinas y la precisión de la MCG) que permitan cerrar definitivamente el lazo de control, el uso de coadyuvantes podría ser un camino alternativo hacia esa nula intervención del usuario, así como hacia la personalización del tratamiento y al logro de control glucémico optimizado para subpoblaciones seleccionadas.

#### **4.3.4 El uso coadyuvante de glucagón: sistemas bihormonales**

Los sistemas AID comercializados en la actualidad son unihormonales, puesto que administran exclusivamente insulina. Como sus algoritmos de control tienen un efecto unidireccional que consiste en disminuir la glucemia, los sistemas unihormonales en general incorporan lazos externos de seguridad que limitan la infusión de insulina para evitar hipoglucemias. En este contexto aparecen los sistemas bihormonales que, con la incorporación de glucagón al sistema de páncreas artificial, disponen de un efecto bidireccional que confiere una protección adicional frente a la hipoglucemia, sobre todo ante situaciones de ejercicio físico.

El glucagón se administra en microbolos y tiene un inicio de acción rápido y de corta duración. Se han utilizado diferentes enfoques para su integración en los algoritmos de páncreas artificial. Una primera aproximación es utilizar la insulina para optimizar el control glucémico con la adición de microbolos de glucagón para prevenir la hipoglucemia sin aumentar la infusión de insulina. Otra alternativa es una administración más agresiva de insulina con un objetivo de glucemia menor y compensar el mayor riesgo de hipoglucemia con dosis intermitentes de glucagón.

Finalmente, la tercera aproximación es la combinación de las previas, con el uso de algoritmos coordinados de insulina y glucagón (170).

La principal barrera para su desarrollo era la inestabilidad del glucagón a temperatura ambiente, superada con el reciente desarrollo de formulaciones de glucagón estables, como el dasiglucagon (171). Sin embargo, como contraprestación, los sistemas bihormonales son sustancialmente más costosos y complejos, requiriendo de dos módulos de infusión separados. Asimismo, aunque no se hayan reportado efectos adversos graves en los estudios publicados hasta la fecha, la administración de glucagón puede producir náuseas, vómitos y eritema en el punto de infusión, y se desconoce la seguridad de su uso a largo plazo.

Aunque todavía no disponemos de ningún sistema AID bihormonal (insulina y glucagón) comercializado, actualmente contamos con dos sistemas con dispositivo único bicameral en fase de desarrollo: Bihormonal iLet Bionic Pancreas e Inreda AP (Inreda Diabetic, Goor, Países Bajos), este último ya con marcado CE. Respecto a su eficacia reportada, el sistema Inreda AP ha demostrado su superioridad frente a ISCI (+/- MCG sin funciones avanzadas) en un ensayo clínico cruzado de 2 semanas de duración con 23 pacientes (172). En dicho estudio demostró un buen rendimiento (TIR 86,6% vs. 53,9%,  $p < 0,01$ ) sin apenas hipoglucemia (0,4% vs. 2,0%,  $p < 0,01$ ), sin anuncio de comida ni de ejercicio. Actualmente se está realizando un ensayo clínico aleatorizado de dicho sistema frente a tratamiento estándar habitual con 240 adultos y 12 meses de seguimiento (173). Por lo que respecta al sistema bihormonal iLet, se han reportado los resultados de un estudio piloto cruzado domiciliario con 10 individuos, en el que se observó mayor TIR, menor tiempo en hipoglucemia y una menor necesidad de ingerir HC para tratarlas, frente al sistema unihormonal de la misma compañía (171).

#### **4.3.5 El uso de otros fármacos coadyuvantes para optimizar el control glucémico**

El uso coadyuvante de otros fármacos también se ha propuesto como alternativa para mejorar el rendimiento de los sistemas AID y superar el obstáculo que supone la farmacocinética de las insulinas comercializadas en la actualidad. Considerando que el control postprandial con estos dispositivos sigue siendo el principal reto para lograr un sistema de lazo completamente cerrado, resulta prometedor la adición de fármacos que enlentezcan el vaciado gástrico, mitigando así el pico hiperglucémico postprandial.

La amilina es una hormona secretada por las células  $\beta$  pancreáticas juntamente con la insulina en individuos sanos y que también es deficitaria en la población con

DT1 (174). La amilina regula la secreción postprandial de glucagón y la producción hepática de glucosa, retrasando el vaciado gástrico y promoviendo la saciedad. Pramlintida, un análogo de dicha hormona, cuenta con estudios que demuestran que su coadministración con insulina reduce la magnitud del incremento de glucemia postprandial, al retrasar el tiempo hasta el pico postprandial. Un ensayo clínico cruzado randomizado y hospitalario comparó el uso de un sistema de administración dual con insulina y pramlintida con un sistema híbrido unihormonal, observando un incremento significativo del TIR (del 74 al 84%) con el sistema dual (175). Un estudio hospitalario reciente que comparaba un sistema dual insulina-pramlintida y de lazo completamente cerrado no demostró su inferioridad frente a un sistema híbrido de lazo cerrado, aunque sí un buen rendimiento (TIR 74%) (176). Los efectos adversos más frecuentes con pramlintida son molestias gastrointestinales, como náuseas y vómitos, que ocurren en un 9,5-59% de los pacientes (157).

Finalmente, otra familia de fármacos hipoglucemiantes no insulínicos estudiados en combinación con los sistemas AID son los inhibidores de SGLT2 (iSGLT2; empagliflozina, canagliflozina, dapagliflozina). El mecanismo de acción de dichos fármacos es la reducción en la recaptación de glucosa en la orina, mediante la inhibición de SGLT2 en el túbulo proximal renal. Estos medicamentos han supuesto una revolución en el manejo de los pacientes con DT2, ofreciendo beneficios no glucémicos adicionales, como la protección cardiovascular y renal (177). En el caso de la DT1, dapagliflozina (5 mg) cuenta con ensayos clínicos que demuestran descensos de tanto la HbA<sub>1c</sub> como de peso corporal en pacientes con control glucémico subóptimo. Como efecto adverso, se ha descrito en esta población un mayor riesgo de cetosis y cetoacidosis diabéticas, que en ocasiones se pueden presentar con valores de glucemia en rango de la normalidad (cetoacidosis euglucémica). Pese a haber recibido aprobación de la Agencia Europea del Medicamento para dicha indicación, el fabricante finalmente decidió retirarla en octubre de 2021.

Por lo que respecta al uso coadyuvante de los iSGLT2 con sistemas AID, contamos con estudios que demuestran un mejor control glucémico frente a placebo, tanto con sistemas híbridos (con empagliflozina 25 mg/día) (178) como con sistemas de lazo totalmente cerrado (con dapagliflozina 10 mg/día) (179). Sin embargo, también se ha reportado una mayor incidencia de cetosis con estos dispositivos (178). En este sentido, la previsible aparición de monitores continuos duales (cetonemia y glucemia intersticiales) puede ser decisivo para un futuro uso clínico futuro de los iSGLT2 como adyuvantes a sistemas AID.



# HIPÓTESIS

---



Como se ha descrito previamente, las personas con DT1 presentan una mayor y más temprana ECV, siendo ésta su principal causa de muerte. La aterosclerosis en esta población tiene una fisiopatología compleja y multifactorial y no es únicamente explicable por el efecto deletéreo de la hiperglucemia. A parte del control de dicha hiperglucemia y de los demás factores de riesgo cardiovascular clásicos, otros factores todavía no bien conocidos contribuyen también al desarrollo de ECV en esta población, algunos de ellos modificables mediante un óptimo manejo terapéutico de la enfermedad.

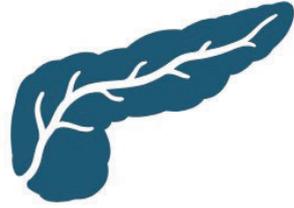
Por un lado, la terapia nutricional es uno de los pilares fundamentales del tratamiento de la DT1, recomendándose evitar la ingesta elevada de HC y promoviendo la sustitución de grasas saturadas y *trans* por mono y poliinsaturadas. Además, en nuestra área geográfica se recomienda a estos pacientes mantener un patrón dietético de estilo mediterráneo, rico en grasas poliinsaturadas omega-3 y omega-6, que en población general ha demostrado disminuir la mortalidad cardiovascular. Pese a todo, el impacto clínico de mantener un perfil de grasas saludables en la dieta sobre el desarrollo de aterosclerosis ha sido escasamente estudiado en sujetos con DT1.

Por otro lado, el tratamiento intensivo con insulina ha demostrado disminuir la incidencia de complicaciones crónicas micro y macrovasculares en las personas con DT1. Sin embargo, la búsqueda de objetivos glucémicos más estrictos se asocia a un aumento en el número de episodios de hipoglucemia, la principal complicación de la enfermedad en la actualidad. Paradójicamente, la hipoglucemia se ha relacionado con el desarrollo de eventos cardiovasculares a nivel de estudios experimentales y observacionales, especialmente en personas con DT2. En el caso de la DT1, la evidencia disponible es controvertida y su papel en esta población todavía está por dilucidar, pero la hipoglucemia se ha postulado como un factor promotor del desarrollo clínico de aterosclerosis. En ese caso, la inclusión de la hipoglucemia en las escalas de riesgo específicas para DT1 podría contribuir a una mejor estratificación del RCV. De ser así, la búsqueda de nuevas estrategias para la prevención de hipoglucemias sería prioritaria.

La tecnología aplicada a la diabetes ha revolucionado en la última década el manejo de la DT1, permitiendo mejorar la calidad de vida de los pacientes, así como optimizar el control glucémico y disminuir el riesgo de hipoglucemia. En este sentido, la monitorización continua mínimamente invasiva de la glucosa podría reducir los eventos de hipoglucemia grave en esta población. Asimismo, los sistemas híbridos de

lazo cerrado pueden ser un tratamiento eficaz y seguro para pacientes con hipoglucemias de repetición, especialmente mediante la personalización de estos dispositivos para este subgrupo y con la inclusión de un recomendador de ingesta de HC. Por lo tanto, la tecnología aplicada a la diabetes podría ser también una herramienta útil para la prevención de enfermedad cardiovascular disminuyendo la exposición a la hipoglucemia, especialmente en individuos con hipoglucemias de repetición, especialmente en situaciones de riesgo.

Por todo ello, nuestra **hipótesis de trabajo** es que un tratamiento integral óptimo de la DT1, que incluya la consecución de la euglucemia (y no sólo evitar la hiperglucemia), puede disminuir el riesgo cardiovascular en las personas con esta enfermedad.



# OBJETIVOS

---



**OBJETIVO 1:** Estudiar la asociación entre el patrón de ingesta de grasa a largo plazo, mediante el perfil de ácidos grasos en membrana eritrocitaria, y la presencia de aterosclerosis preclínica en sujetos con DT1.

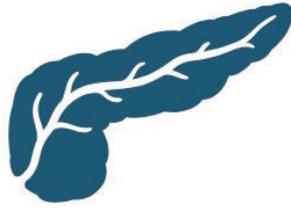
**OBJETIVO 2:** Estudiar la asociación entre tiempo en hipoglucemia medido por MCG y la presencia de aterosclerosis preclínica en sujetos con DT1.

**OBJETIVO 3:** Estudiar si la inclusión de variables asociadas a la exposición crónica a la hipoglucemia, como el antecedente de hipoglucemia grave y la percepción a la hipoglucemia, en la calculadora de riesgo cardiovascular específica para DT1 *Steno T1 Risk Engine* podría mejorar la identificación de individuos con aterosclerosis preclínica.

**OBJETIVO 4:** Estudiar la efectividad del uso de monitorización *flash* de la glucosa para la disminución de hipoglucemias graves y exposición a hipoglucemias, en pacientes con DT1 e hipoglucemias de repetición.

**OBJETIVO 5:** Estudiar la eficacia y seguridad de un sistema híbrido de lazo cerrado con recomendador de hidratos de carbono para pacientes con alto riesgo de hipoglucemia.





# MATERIAL, MÉTODOS Y RESULTADOS

---



## **ARTÍCULO 1: LOS MARCADORES DE CONSUMO DE ÁCIDOS GRASOS DE LA DIETA SE ASOCIAN CON LA ATEROSCLEROSIS PRECLÍNICA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 1**

**INTRODUCCIÓN:** Aunque la nutrición es un pilar del manejo de la DT1, existe poca información sobre su impacto sobre las complicaciones crónicas. Evaluamos la relación entre marcadores de consumo de ácidos grasos (AG) y la aterosclerosis en esta población.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Seleccionamos pacientes con DT1, sin ECV, con alguno de los siguientes:  $\geq 40$  años, enfermedad renal diabética, o  $\geq 10$  años de evolución más otro factor de RCV. Se evaluó mediante ecografía carotídea la presencia de placas (grosor de íntima-media  $\geq 1,5$  mm), y las proporciones de AG en membrana eritrocitaria mediante cromatografía de gases.

**RESULTADOS:** Incluimos 167 pacientes, 58,7% hombres, edad  $48,3 \pm 10,3$  años, 10,2% con nefropatía. 61 pacientes (36,5%) presentaron placas carotídeas. Tras ajustar por factores de RCV clásicos (edad, sexo, presión arterial, tabaquismo, LDL, índice de masa corporal y estatinas), y específicos de DT1 (duración de diabetes, HbA<sub>1c</sub> y complicaciones crónicas), el ácido linoleico mantuvo su asociación inversa con la presencia de placa (OR 0,70 [0,51-0,98]; para incrementos del 1%), mientras que los AG *trans* su relación directa con  $\geq 3$  placas (OR 1,51 [1,05-2,16]; para incrementos del 0,1%).

**CONCLUSIONES:** Los AG en membrana eritrocitaria, como un marcador de su consumo, se asocian de forma independiente con la aterosclerosis. Nuestros hallazgos apoyarían la importancia de la dieta en las complicaciones crónicas de la DT1.





# Biomarkers of fatty acid intake are independently associated with preclinical atherosclerosis in individuals with type 1 diabetes

Alex Mesa<sup>1</sup> · Montserrat Cofán<sup>2,3</sup> · Enric Esmatjes<sup>2,4</sup> · Verónica Perea<sup>5</sup> · Laura Boswell<sup>1,6</sup> · Marga Giménez<sup>2,4</sup> · Aleix Sala-Vila<sup>2,3</sup> · Irene Vinagre<sup>2</sup> · Clara Viñals<sup>1</sup> · Gemma Chiva-Blanch<sup>2,3</sup> · Tonet Serés-Noriega<sup>1</sup> · Jesús Blanco<sup>2</sup> · Ignacio Conget<sup>2,4</sup> · Emilio Ortega<sup>1,2,3</sup> · Antonio J. Amor<sup>1</sup>

Received: 12 November 2020 / Accepted: 8 June 2021 / Published online: 18 June 2021  
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2021

## Abstract

**Purpose** Information on the association between diet and cardiovascular disease (CVD) in type 1 diabetes (T1D) is scarce. We assessed the association between biomarkers of fatty acid (FA) intake and the presence of carotid plaques (a surrogate marker of future CVD events) in this high-risk population.

**Methods** Cross-sectional study in 167 consecutive T1D patients without CVD and with at least one of the following:  $\geq 40$  years, diabetic nephropathy, or  $\geq 10$  years of T1D duration with another CVD risk factor. The FA profile of erythrocyte membranes was determined by gas chromatography, and the number of carotid plaques (intima-media thickness  $\geq 1.5$  mm) was assessed by ultrasonography. Regression models were constructed adjusting for classical (age, gender, blood pressure, smoking habit, LDL-cholesterol, body mass index and statins) and T1D-specific risk factors (diabetes duration, HbA1c and chronic complications).

**Results** A total of 58.7% were men (mean age  $48.3 \pm 10.3$  years, T1D duration  $27.2 \pm 10.1$  years). Sixty-one patients (36.5%) showed carotid plaque. Linoleic acid decreased and all-C18:1*trans* increased with the number of carotid plaques (none, 1–2,  $\geq 3$  plaques;  $p$  for trend  $< 0.05$ ). In multivariate regression models, linoleic acid remained inversely associated with the presence of plaque [1% increase of total FAs; OR 0.71 (0.53–0.95),  $p = 0.021$ ] and  $\geq 2$  plaques [OR 0.70 (0.51–0.98),  $p = 0.039$ ]; whereas, all-C18:1*trans* was positively associated with  $\geq 3$  plaques (0.1% increase of total FAs; OR 1.51 [1.05–2.16],  $p = 0.026$ ).

**Conclusions** Erythrocyte FA composition, as a biomarker of FA intake, was independently associated with preclinical atherosclerosis in T1DM. Our data support the potential role of an unfavorable pattern of fat intake and CVD risk in this population.

**Keywords** Type 1 diabetes · Preclinical atherosclerosis · Carotid ultrasonography · Fatty acids · Linoleic acid · *Trans* fatty acids

---

Alex Mesa and Montserrat Cofán have contributed equally.

✉ Emilio Ortega  
eortega1@clinic.cat

✉ Antonio J. Amor  
ajamor@clinic.cat

<sup>1</sup> Endocrinology and Nutrition Department, Hospital Clinic de Barcelona, Carrer de Villarroel, 170, 08036 Barcelona, Spain

<sup>2</sup> Endocrinology and Nutrition Department, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>3</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid, Spain

<sup>4</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid, Spain

<sup>5</sup> Endocrinology and Nutrition Department, Hospital Universitari Mútua de Terrassa, Terrassa, Spain

<sup>6</sup> Endocrinology and Nutrition Department, Althaia-Xarxa Assistencial Universitària de Manresa, Manresa, Spain

## Introduction

Type 1 diabetes mellitus (T1D) is the most common form of diabetes in childhood and it is estimated that 1,100,100 children and adolescents live with this condition worldwide [1]. Its incidence varies greatly between countries, with rates in children  $\leq 14$  years of age (per 100,000 per year) that range from 0.1 in Venezuela to 62.3 in Finland, but is globally increasing [1]. People with T1D are at a two–eightfold increased risk of cardiovascular disease (CVD) and death [2]. Although tight glycemic control reduces the risk of CVD [3], individuals with good metabolic control still have an increased risk of death from CVD causes compared to the general population [4]. Thus, extra-glycemic variables have to be taken into account to tackle their main cause of mortality [5, 6]. In this regard, the American Diabetes Association (ADA) establishes that medical nutrition therapy could play a significant role, not only in glycemic control, but also in preventing chronic complications themselves [7]. Concerning dietary fat, the ADA recommends reducing *trans* fatty acids (TFA) intake coupled with the replacement of dietary saturated fatty acids (SFAs) with monounsaturated fatty acids (MUFAs) and polyunsaturated fatty acids (PUFAs) [7, 8]. In contrast to the abundant research on dietary fat and type 2 diabetes [9–12], data on patients with T1D are scarce [13, 14].

The fatty acid (FA) composition of erythrocyte membranes is a biomarker of long-term intake (120 days) of dietary FA with absent or marginal endogenous synthesis, namely TFA and the PUFAs linoleic acid (LA, C18:2n-6), alpha-linolenic acid (ALA, C18:3n-3), eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5n-3) and docosahexaenoic acid (DHA, C22:6n-3) [15]. In this cross-sectional study conducted in T1D patients, we explored whether the proportion of these FAs in erythrocyte membranes were independent determinants of carotid plaque presence, a surrogate marker of future CVD [16].

## Materials and methods

### Study participants

Following protocol approval by the ethics committee institutional review board, we conducted a cross-sectional study in  $n = 167$  subjects with T1D followed at the Diabetes Unit of a tertiary hospital. We included consecutive participants with no previous personal history of CVD (coronary artery disease, ischemic stroke, peripheral artery disease or heart failure) and high CVD risk according to the main CVD prevention guidelines

[17–21]: (a) age  $\geq 40$  years; (b) presence of any stage of diabetic nephropathy; (c) or  $\geq 10$  years of duration of T1D and at least one additional CVD risk factor: family history of premature CVD (defined as any CVD occurring before 55 years of age in men and before 65 years of age in women [20]), active smoking habit, hypertension, low HDL-cholesterol levels ( $< 40$  mg/dL in males,  $< 45$  mg/dL in females), high triglycerides levels ( $> 150$  mg/dL), being already on statins, a former episode of preeclampsia/eclampsia, the presence of diabetic retinopathy, impaired hypoglycemia awareness or a previous episode of severe hypoglycemia in the last two years. Criteria for T1D included past or present positivity for glutamic acid decarboxylase 65, tyrosine-phosphatase-like protein IA2 or insulin antibodies (only considered in insulin-naive patients), occurrence of diabetic ketosis or ketoacidosis following the onset of classical hyperglycemic symptoms and/or need for continuous insulin treatment. Patients with clinical suspicion of latent autoimmune diabetes in adults (LADA), monogenic diabetes or prior pancreatic diseases (pancreatitis, surgery) were excluded.

The study protocol was conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki. Patients were included after giving their informed consent.

### Clinical and laboratory measures

We obtained clinical data such as age, gender, family history of premature CVD in first-degree relatives, smoking habit, the presence of hypertension, as well as the use of certain medications (antihypertensive, lipid-lowering, antiplatelet or non-insulin antidiabetic agents). Furthermore, T1D-specific clinical variables were recorded: diabetes duration (years), current insulin therapy [continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) or multiple daily insulin injection therapy (MDI)], presence of microvascular complications (nephropathy, retinopathy) and history of severe hypoglycemia or impaired hypoglycemia awareness (Clarke test score  $> 3$  points [22, 23]).

Anthropometric measures including height, weight, waist and hip circumference, were also recorded and obtained with standards methods. Body mass index (BMI) was calculated as weight in kilograms divided by square height in meters. Blood pressure was registered using a blood pressure monitor after a few minutes of rest.

Analytical data were obtained using standardized assays to measure serum creatinine, urinary albumin-to-creatinine ratio, HbA1c and fasting glucose and lipid profile (total cholesterol, triglycerides and HDL-cholesterol by direct methods; LDL-cholesterol by the Friedewald formula). Glomerular filtration rate was estimated by the Chronic Kidney Disease-Epidemiology Collaboration equation (CKD-EPI) [24]. HbA1c was measured centrally

with the same method (high performance liquid chromatography and expressed in National Glycohemoglobin Standardization Program/Diabetes Control and Complications Trial units). The values of the last 5 years (median determinations every year: 3 [2–4]), obtained from medical records, were used to calculate mean HbA1c.

Diabetic nephropathy was considered if albumin-to-creatinine ratio was  $\geq 30$  mg/g confirmed on at least two out of three consecutive determinations, or the use of angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEi) or angiotensin II receptor blockers (ARB), with no history of hypertension or CVD. The diagnosis of diabetic retinopathy was obtained from medical records and was always verified by an ophthalmologist. Hypertension was defined as consecutive determinations of systolic blood pressure  $\geq 140$  mmHg and diastolic blood pressure  $\geq 90$  mmHg; or being treated with antihypertensive drugs (except those on ACEi/ARB for diabetic nephropathy).

### Determination of the FA profile of erythrocyte membranes

The proportion of FA in erythrocyte membranes was assessed using a standardized protocol, as described previously [25]. Briefly, a 100  $\mu$ L aliquot of EDTA-collected blood was transferred into an Eppendorf containing 1400  $\mu$ L of distilled water. Once hemolysis was complete, tubes were spun and the supernatant containing hemoglobin and serum lipids was discarded. The pellet (> 99.5% of erythrocyte membranes) was dissolved in 1 mL BF<sub>3</sub> methanol solution and transferred to a screw-cap test tube, which was then heated at 100 °C for 10 min to hydrolyze and methylate glycerophospholipid FA. The extracts were cooled to 25 °C and FA methyl esters were isolated by adding n-hexane. An aliquot of the hexane layer was transferred into an automatic injector vial equipped with a 300  $\mu$ L volume adapter. FA methyl esters were separated by gas chromatography using an Agilent 7890 Gas Chromatograph (Agilent España, Spain) equipped with a 30 m  $\times$  0.25  $\mu$ m  $\times$  0.25 mm SupraWAX280 capillary column (Teknokroma, Spain), an autosampler, and a flame ionization detector. We determined a total of 23 FAs (detailed information is displayed in Supplementary Table 1), the amount of each was expressed as a percentage of the total identified FAs in the sample. Given that we used a chromatographic technique where all-C18:1*trans* isomer (including species from both industrial and natural origin) eluted into a single peak, we use the term “all-C18:1*trans*”. The relative standard deviation values ranged in the range of 1.4–6.8%.

### Carotid B-mode ultrasound imaging

Bilateral carotid artery ultrasound images were acquired using high-resolution B-mode ultrasound [Acuson X300 and Acuson X700 (Siemens)] with an electric linear array 5–10 MHz transducer. Predefined and standardized imaging protocols to evaluate carotid intima-media thickness (IMT) and plaque presence were carried out as described previously [5, 26]. IMT was measured off-line by the same experienced researcher (A.J.A.) using a semiautomatic software. Plaques were visualized using B-mode and color Doppler in both longitudinal and transverse planes to evaluate the presence of circumferential asymmetry. Carotid plaques [common carotid (CC), bulb or internal carotid (IC)] were defined as focal echo-structures encroaching into the arterial lumen by at least 50% of the surrounding IMT value or when IMT was at least 1.5 mm as measured from the media adventitia interface to the intima-lumen surface [27]. Mean and mean-maximum IMT of all the carotid segments were recorded, as well as the maximum height of carotid plaque. Plaque height was recorded at the most appropriate view, either longitudinal or transversal. When carotid plaques were present, maximum IMT equaled the highest plaque height. Peak systolic and end diastolic velocities were used to evaluate carotid stenosis and the planimetric area was measured at a transversal view when significant plaques (IMT > 2.5 mm) were found. Consistency (reliability or repeatability) of ultrasound carotid wall measurements was evaluated in paired examinations in 10 individuals. Intraclass correlation coefficient ranged from 0.92 to 0.95 for mean and maximum IMT for all carotid segments (common, bulb, and internal carotid); 0.97 for maximum IMT of any carotid segment; and 0.92 for maximum height of carotid plaque.

### Statistical analyses

Data are presented as mean  $\pm$  standard deviation, median and 25th and 75th percentiles or number (percentage). For continuous variables, a Kolmogorov–Smirnov test was used to determine normality. Non-normally distributed variables were log transformed to reduce skewness for some of the analysis. Comparisons of variables according to the presence and number of carotid plaques were performed using an unpaired Student's *t* test or ANOVA for normally distributed continuous variables, or the Mann–Whitney *U* test or Kruskal–Wallis test for non-normally distributed variables, as appropriate. Proportions were compared using a chi-square test. Finally, the Mantel–Haenszel test for categorical variables and the linear contrast analysis for continuous variables were used as trends tests.

To search for independent relationships between the proportion of FAs in the erythrocyte membranes (independent variables) and the presence of carotid plaques (main

outcome) and plaque burden (secondary outcomes): presence of  $\geq 2$  plaques and  $\geq 3$  plaques (dependent variables); we constructed logistic binary regression models. The first model included only the main dietary FAs (Model 1). We further included as covariates classic CVD risk factors, namely age, gender, systolic blood pressure, active smoking habit, LDL-cholesterol, BMI, and statin use (Model 2); finally, we added T1D-specific variables, namely diabetes duration, mean HbA1c in the last 5 years, albumin-to-creatinine ratio, and presence of retinopathy (Model 3). Data were expressed as 1% increase for C18:2n-6 and 0.1% increase for all-C18:1*trans*, according to their average proportion (Supplementary Table 1). As an exploratory analysis, we also assessed the associations of the remaining FAs contributing at least 0.05% of total erythrocyte phospholipids FAs and with coefficients of variation  $\leq 30\%$  (Supplementary Table 1), adjusted for the same variables as above.

Since no previous data were available regarding the differences in erythrocyte FA according to the presence of carotid plaque in the setting of T1D population, in this preliminary study, a sample size calculation was not performed. However, a post hoc power analysis for the main outcome (presence of carotid plaque) yielded a result of 0.84. IBM SPSS Statistics version 23.0 (SPSS Inc.; Chicago, IL, USA) was used to perform the statistical analysis, all tests were two-tailed and significance was considered if  $p$  value  $< 0.05$ .

## Results

A total of 167 patients were included (58.7% male, mean age of  $48.3 \pm 10.3$  years and  $27.2 \pm 10.1$  years of diabetes duration). 45% (75 out of 167) had a childhood-onset T1D. 44% ( $n = 74$ ) of the participants had established microvascular complications (i.e., diabetic nephropathy or retinopathy), whereas 43.1% ( $n = 72$ ) were on statin treatment. The prevalence of  $\geq 1$ ,  $\geq 2$  and  $\geq 3$  carotid plaques on the bilateral artery ultrasound imaging was 36.5% ( $n = 61$ ), 22.8% ( $n = 38$ ) and 9.0% ( $n = 15$ ), respectively. Table 1 displays clinical characteristics, laboratory data and therapeutic regimens of the study population according to the presence of carotid plaques. Subjects with at least one plaque were older, more frequently male and had higher prevalence of hypertension as well as higher clinical systolic blood pressure. No between-group differences were shown in other classic CVD risk factors (smoking habit, BMI, LDL-cholesterol levels, statin use, family history of premature CVD) or in T1D-specific clinical variables (diabetes duration, HbA1c and presence of microvascular complications).

The correlations between the different studied FA are shown in Supplementary Table 2. Interestingly, LA showed an inverse association with several TFA (including all-C18:1*trans*) and n-3 PUFAs (EPA and DHA), and a positive

relationship with other n-6 PUFAs. Erythrocyte membrane FA profile by the presence of carotid plaque is presented in Table 2. Significant between-group differences were limited to C18:2n-6 (LA), which was significantly lower in the group harboring carotid plaques (11.84% vs. 11.13%,  $p = 0.002$ ). When grouping the study population according to plaque burden (0 plaques, 1–2 plaques, and  $\geq 3$  plaques), significant differences were only observed for LA (Fig. 1, upper panel) and all-C18:1*trans* (Fig. 1, lower panel). No significant differences were observed in the other selected FAs reflecting dietary intake (namely, C18:3n-3, C20:5n-3 or C22:6n-3).

To evaluate the independent contribution of the different selected erythrocyte FAs on preclinical atherosclerosis, multivariate regression models were constructed for the presence of  $\geq 1$  carotid plaque (Supplementary Table 3),  $\geq 2$  plaques (Supplementary Table 4) and  $\geq 3$  plaques (Supplementary Table 5). Only precise estimated findings for the selected FAs were reported here, whereas the associations with other FAs can be found in the Supplementary Data. Figure 2 summarizes the Odds Ratio (95% confidence interval) of the cross-sectional associations of the presence and number of carotid plaques with the main dietary FA markers, classic CVD risk factors and T1D-specific clinical variables. After adjusting for potential confounders, an increase in LA in erythrocyte membranes was inversely related to having at least one carotid plaque [OR 0.71 (0.53–0.95),  $p = 0.021$ ; 1% increase of total FAs] and  $\geq 2$  plaques [OR 0.70 (0.51–0.98),  $p = 0.039$ ; 0.1% increase]. In contrast, all-C18:1*trans* were directly associated with having  $\geq 3$  plaques [OR 1.51 (1.05–2.16),  $p = 0.026$ ; 0.1% increase of total FAs]. As expected, age was independently and directly associated with all atherosclerosis variables:  $\geq 1$  carotid plaque [OR 1.66 (1.09–2.54),  $p = 0.019$ ],  $\geq 2$  plaques [OR 1.86 (1.15–3.00),  $p = 0.012$ ] and  $\geq 3$  plaques [OR 3.10 (1.42–6.77),  $p = 0.005$ ; per 10 years increase]. SBP was also directly associated with plaque presence [OR 1.33 (1.03–1.72),  $p = 0.029$ ; per 10 mmHg increase], and with the presence of  $\geq 2$  plaques [OR 1.31 (1.01–1.72),  $p = 0.046$ ; per 10 mmHg increase; Supplementary Tables 3–5]. The data regarding other erythrocyte FA in relation with carotid plaques are shown in Supplementary Files (Supplementary Tables 6–8).

## Discussion

In our sample of participants with high-risk T1D, the proportion of selected FA in the erythrocyte membranes with absent or marginal endogenous synthesis (a surrogate marker of dietary FA intake) was independently associated with the presence and number of carotid plaques, a predictor of future cardiovascular events. We found that erythrocyte

**Table 1** Characteristics of the study participants according to the presence of carotid plaque

	All participants (n = 167)	No plaque presence (n = 106)	Plaque presence (n = 61)	p value
<b>Clinical characteristics</b>				
Male	98 (58.7)	56 (52.8)	42 (68.9)	0.043
Age (years)	47.8 ± 10.3	45.3 ± 10.0	52.13 ± 9.5	< 0.001
Premature CVD in first-degree relatives <sup>a</sup>	19 (11.4)	14 (13.2)	5 (8.2)	0.326
Current smokers	45 (26.9)	31 (29.2)	14 (23.0)	0.377
Hypertension	50 (29.9)	25 (23.6)	25 (41.0)	0.018
SBP (mmHg)	128 ± 16	125 ± 15	132 ± 16	0.002
DBP (mmHg)	81 ± 9	80 ± 9	82 ± 8	0.262
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26.3 ± 3.8	26.3 ± 3.9	26.2 ± 3.6	0.911
Waist circumference (cm)	92 ± 12	92 ± 12	94 ± 12	0.332
Female (cm)	86 ± 11	87 ± 11	85 ± 12	0.674
Male (cm)	97 ± 11	96 ± 11	97 ± 11	0.678
T1D duration (years)	27.2 ± 10.1	26.3 ± 9.1	28.8 ± 11.6	0.118
Diabetic nephropathy	17 (10.2)	10 (9.4)	7 (11.5)	0.674
Diabetic retinopathy	67 (40.1)	43 (40.6)	24 (39.3)	0.877
CSII therapy	67 (40.1)	45 (42.5)	22 (36.1)	0.417
<b>Laboratory characteristics</b>				
Fasting plasma glucose (mg/dL)	153 ± 62	150 ± 63	158 ± 60	0.463
Hemoglobin A1c (%)	7.5 (7.0–8.0)	7.5 (7.0–7.9)	7.6 (7.1–8.2)	0.496
Serum creatinine (mg/dL)	0.83 ± 0.17	0.82 ± 0.17	0.85 ± 0.17	0.326
eGFR(CKD-EPI; ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	97 ± 15	99 ± 15	94 ± 14	0.042
Total cholesterol (mg/dL)	193 ± 29	193 ± 25	191 ± 34	0.647
HDL-cholesterol (mg/dL)	59 ± 16	61 ± 15	57 ± 16	0.102
LDL-cholesterol (mg/dL)	116 ± 24	117 ± 22	116 ± 27	0.702
Triglycerides (mg/dL)	73 (60–101)	68 (56–92)	84 (67–120)	0.004
Non-HDL cholesterol (mg/dL)	133 ± 25	133 ± 23	135 ± 29	0.622
<b>Pharmacological treatment</b>				
Statins	72 (43.1)	42 (39.6)	30 (49.2)	0.230
ACEi/ARB	53 (31.7)	27 (25.5)	26 (42.6)	0.022
Antiplatelet drugs	15 (9.0)	8 (7.5)	7 (11.5)	0.393
<b>Carotid ultrasonography</b>				
Mean CCA (mm)	0.665 (0.560–0.797)	0.600 (0.538–0.720)	0.765 (0.660–0.875)	< 0.001
Mean-maximum CCA (mm)	0.812 (0.694–0.944)	0.753 (0.675–0.887)	0.916 (0.802–1.058)	< 0.001
Mean bulb (mm)	0.814 (0.711–1.034)	0.754 (0.667–0.823)	1.060 (0.945–1.273)	< 0.001
Mean-maximum bulb (mm)	1.021 (0.921–1.243)	0.951 (0.851–1.028)	1.418 (1.155–1.714)	< 0.001
Mean ICA (mm)	0.648 (0.539–0.778)	0.585 (0.507–0.684)	0.766 (0.658–0.941)	< 0.001
Mean-maximum ICA (mm)	0.807 (0.700–0.981)	0.744 (0.662–0.851)	1.002 (0.815–1.265)	< 0.001
Maximum IMT at any carotid segment	1.186 (1.002–1.836)	1.033 (0.915–1.161)	2.100 (1.762–2.505)	< 0.001

Data are shown as n (percentage), mean ± standard deviation or median (Q1–Q3). p values for group comparisons are reported

ACEi angiotensin-converting enzyme inhibitor, ARB angiotensin receptor blocker, BMI Body Mass Index, CCA common carotid artery, CVD cardiovascular disease, CSII continuous subcutaneous insulin infusion, DBP diastolic blood pressure, eGFR estimated glomerular filtration rate, HDL high density lipoprotein, ICA internal carotid artery, IMT intima-media thickness, LDL low density lipoprotein, SBP systolic blood pressure, T1D type 1 diabetes

<sup>a</sup>Defined as < 55 years in men and < 65 years in women

enrichment in LA was inversely associated with the presence of carotid plaque, while all-C18:1trans in the erythrocyte membranes were directly associated with the presence of ≥ 3 carotid plaques. As far as we are aware, no prior study in patients with T1D had tested the relationship between the

FA profile of erythrocyte membranes and preclinical carotid atherosclerosis.

Even though nutrition therapy is one of the cornerstones of the management of T1D [8], the information about its impact on clinical outcomes beyond glycemic control has

**Table 2** Erythrocyte fatty acid composition (% of total fatty acids) of study participants according to presence of carotid plaque

Fatty acid	All participants (n = 167)	No plaque presence (n = 106)	Plaque presence (n = 61)	p value
C14:0	0.25 (0.21–0.29)	0.25 (0.21–0.28)	0.25 (0.20–0.29)	0.730
C16:0	19.72 (19.21–20.26)	19.65 (19.23–20.15)	19.94 (19.18–20.45)	0.442
C18:0	17.50 (16.88–17.96)	17.50 (16.93–17.93)	17.51 (16.83–18.02)	0.856
C20:0	0.26 (0.22–0.30)	0.26 (0.23–0.30)	0.27 (0.22–0.31)	0.618
C22:0	0.20 (0.14–0.31)	0.21 (0.14–0.31)	0.20 (0.15–0.35)	0.692
C24:0	1.04 (0.94–1.22)	1.04 (0.94–1.22)	1.04 (0.94–1.22)	0.817
Sum of SFA	39.10 (38.71–39.60)	39.00 (38.72–39.42)	39.32 (38.67–39.71)	0.070
<i>cis</i> -C16:1n-7	0.29 (0.24–0.38)	0.29 (0.24–0.39)	0.30 (0.24–0.37)	0.931
<i>trans</i> -C16:1n-7	0.10 (0.08–0.12)	0.10 (0.08–0.12)	0.10 (0.08–0.13)	0.662
<i>cis</i> -C18:1n-9	15.06 (14.20–15.79)	15.08 (14.14–15.74)	14.98 (14.21–16.20)	0.697
All-C18:1 <i>trans</i>	1.25 (1.17–1.36)	1.24 (1.17–1.35)	1.27 (1.16–1.40)	0.415
C20:1n-9	0.43 (0.37–0.49)	0.44 (0.39–0.49)	0.42 (0.36–0.50)	0.246
C24:1n-9	0.23 (0.15–0.33)	0.23 (0.15–0.31)	0.23 (0.14–0.34)	0.977
Sum of MUFA	19.92 (18.25–21.96)	19.89 (18.15–21.88)	19.99 (18.31–22.44)	0.371
C18:2n-6	11.64 (10.70–12.55)	11.84 (11.28–12.77)	11.13 (10.29–12.28)	0.002
C18:3n-6	0.12 (0.10–0.14)	0.12 (0.10–0.14)	0.12 (0.10–0.13)	0.780
C20:2n-6	0.31 (0.27–0.34)	0.32 (0.27–0.35)	0.30 (0.25–0.33)	0.156
C20:3n-6	1.60 (1.40–1.81)	1.60 (1.43–1.79)	1.55 (1.36–1.84)	0.441
C20:4n-6	16.73 (15.71–17.61)	16.68 (15.59–17.61)	16.86 (15.80–17.85)	0.355
C22:4n-6	3.23 (2.88–3.64)	3.24 (2.87–3.64)	3.23 (2.88–3.67)	0.776
C22:5n-6	0.58 (0.47–0.70)	0.57 (0.47–0.68)	0.59 (0.48–0.76)	0.280
Sum of n-6 PUFA	34.33 (32.94–35.71)	34.34 (33.02–35.82)	34.28 (32.82–35.38)	0.216
C18:3n-3	0.20 (0.13–0.42)	0.19 (0.12–0.41)	0.29 (0.14–0.43)	0.167
C20:5n-3	0.47 (0.39–0.58)	0.46 (0.39–0.56)	0.49 (0.40–0.64)	0.141
C22:5n-3	1.88 (1.63–2.12)	1.90 (1.63–2.11)	1.88 (1.62–2.16)	0.942
C22:6n-3	6.26 (5.39–7.06)	6.28 (5.43–7.14)	6.26 (5.28–7.04)	0.927
Omega-3 index (C20:5n-3 + C22:6n-3)	6.84 (5.88–7.66)	6.82 (5.86–7.60)	6.85 (5.88–7.70)	0.692
Main dietary PUFA <sup>a</sup>	18.86 (17.73–19.84)	19.09 (17.89–20.18)	18.51 (17.09–19.66)	0.108

Data are shown as median (Q1–Q3)

SFA saturated fatty acids, MUFA monounsaturated fatty acids, PUFA polyunsaturated fatty acids

<sup>a</sup>Sum of C18:2n-6, C18:3n-3, C20:5n-3 and C22:6n-3

been scarcely assessed. Although some studies in our geographical area have shown that T1D patients had a more favorable dietary pattern than their non-diabetic counterparts [28], whether this results in a lower rate of chronic diabetic complications remains unknown. Previous preliminary cross-sectional studies have shown apparently contradictory findings regarding total fat intake and diabetic complications [13, 14]. For instance, whereas in  $n = 571$  American T1D patients the total fat was directly associated with greater odds of coronary artery calcium [14], in  $n = 243$  T1D from a Mediterranean area the same variable was independently associated with a lower prevalence of diabetic retinopathy [13]. In addition to differences in the outcomes (macro- vs. microvascular complications), part of this controversy might be explained by the different source of the main FAs: SFAs were associated with increased prevalence of coronary

calcifications; and MUFAs with lower prevalence of retinopathy [13, 14]. In the same line, in our study sample of T1D patients, the in-depth analysis of the different FA in erythrocytes (in contrast to the assessment of the FA intake as a whole) allowed us to depict a different profile directly or inversely related with carotid atherosclerosis (Fig. 2).

We report an inverse association between LA enrichment in erythrocytes and prevalence of carotid plaque. Even though we adjusted for several confounders closely related to atherosclerosis (such as statin treatment or lipid levels) or BMI (which blunted some of the associations with FA intake and coronary atherosclerosis in previous studies in T1D [14]), LA remained strongly and inversely related to the presence and the number of carotid plaques. There has been much controversy on whether LA intake might promote CVD, given that LA can be converted to arachidonic

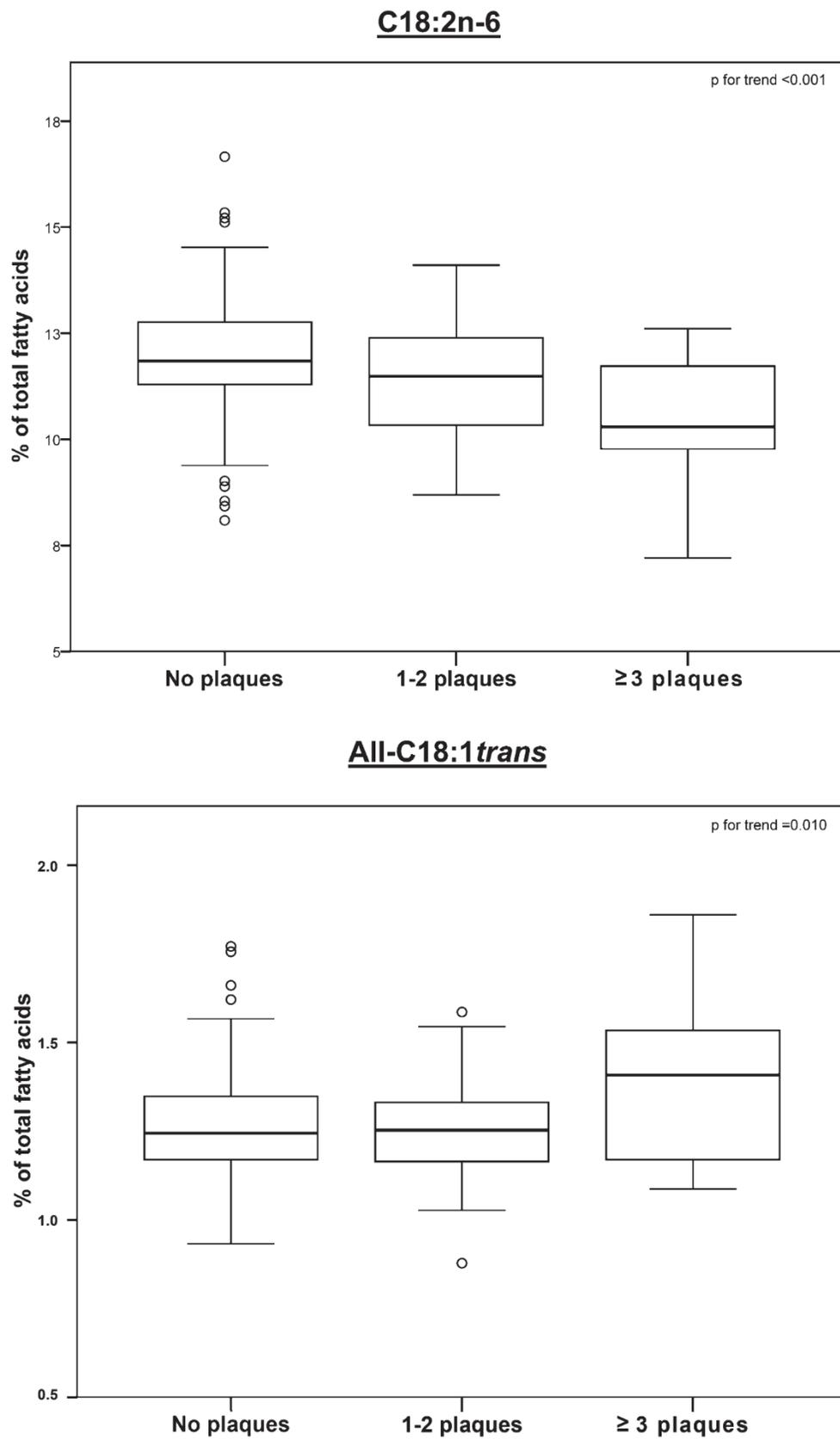
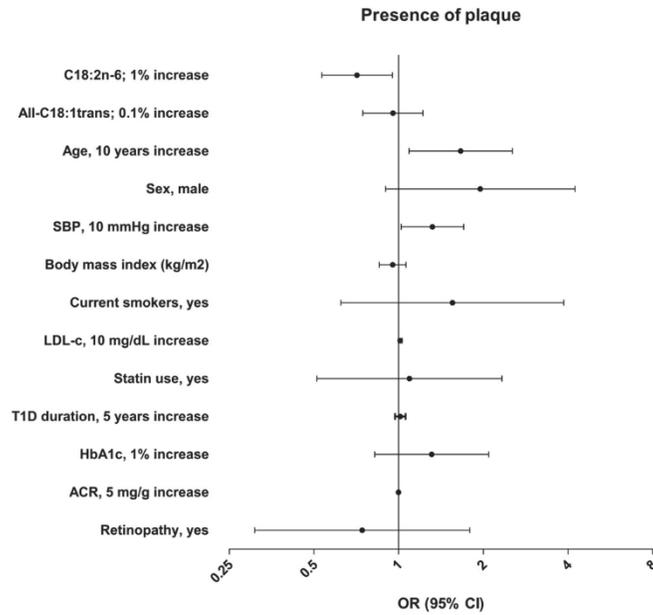


Fig. 1 Linoleic acid (C18:2n-6) and all-C18:1trans of study participants according to number of carotid plaques. Data are presented as box plots

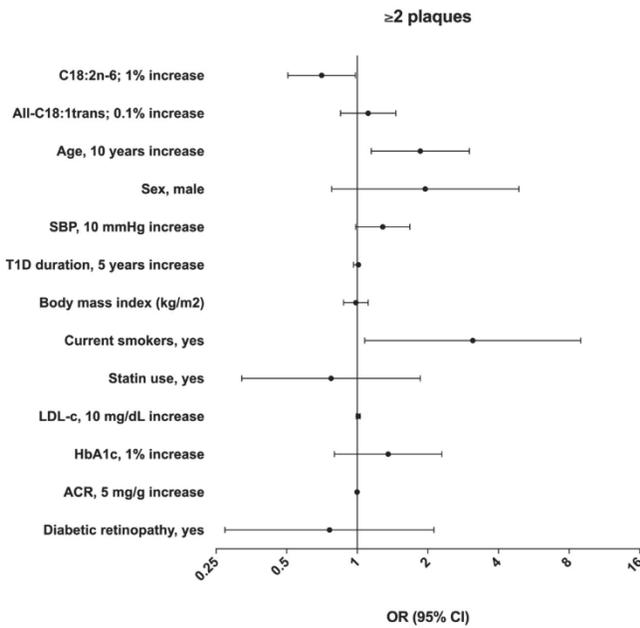
Main outcome

A

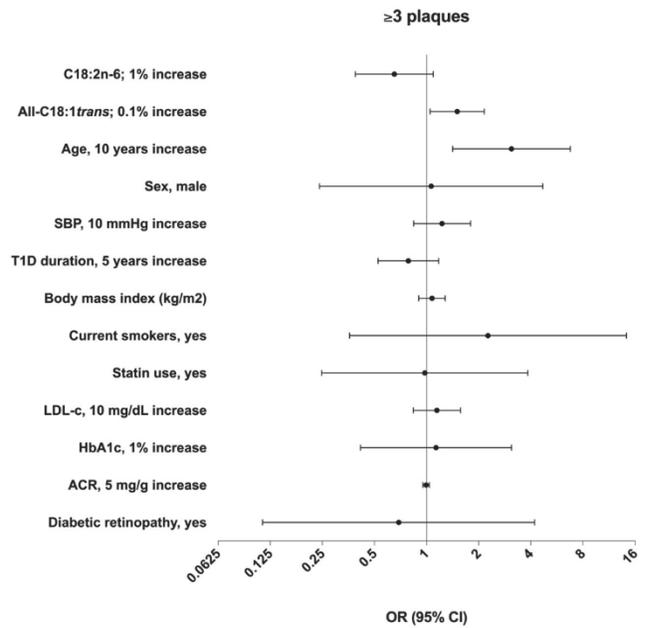


Secondary outcomes

B



C



◀**Fig. 2** Variables independently associated with the presence and number of carotid plaques (logistic regression analysis). Logistic regression models (Odds Ratio and 95% confidence interval) are shown for: presence of carotid plaque (**A**), presence of  $\geq 2$  carotid plaques (**B**) or presence of  $\geq 3$  carotid plaques. Presence of plaque **A**: C18:2n-6, OR 0.77 (0.53–0.95),  $p=0.021$ ; All-C18:1*trans*, OR 0.95 (0.75–1.22),  $p=0.710$ .  $\geq 2$  carotid plaques **B**: C18:2n-6, OR 0.70 (0.51–0.98),  $p=0.039$ ; All-C18:1*trans*, OR 1.11 (0.85–1.46),  $p=0.443$ .  $\geq 3$  carotid plaques **C**: C18:2n-6, OR 0.65 (0.39–1.1),  $p=0.105$ ; all-C18:1*trans*, OR 1.51 (1.05–2.16),  $p=0.026$ . ACR: albumin-to-creatinine ratio; SBP: systolic blood pressure; T1D: type 1 diabetes

acid, which is a precursor of several pro-inflammatory lipid mediators [29]. Although some studies failed to show any association between LA and CVD [30, 31], three recent meta-analyses in general population using several biomarkers of dietary LA intake (adipose tissue and blood) reported that this FA was strongly associated with CVD protection [32–34]. Since membrane LA levels necessarily reflect dietary levels of this essential FA, our finding suggests that higher intakes of LA may induce vascular benefits in this specific population. However, this may be an indirect effect, as LA is a surrogate marker of the consumption of vegetable oils such as safflower, sunflower, corn and soybean oils, as well as nuts and seeds. Such foods contain beneficial nutrients and other bioactives such as vitamins, polyphenols and non-sodium minerals. Notwithstanding, our finding concurs with the recommendations recently released by the American Heart Association (AHA) to replace foods rich in SFAs for those rich in n-6 PUFAs to decrease CVD risk [35], not only for general population, but also for high-risk populations such as T1D patients.

In line with previous investigations in the general population [10, 36], our findings also suggest a harmful vascular effect of TFAs. Even if it is uncertain whether TFAs from natural food sources (beef and dairy products) are pro-atherogenic [37], most TFAs are industrially produced, and both the European Society of Cardiology (ESC) and the AHA recommend to derive  $< 1\%$  of total energy intake from all dietary TFAs, regardless of the origin [35, 38]. In our study, we focused on all-C18:1*trans*, the most abundant TFA in diet, found in both partially hydrogenated oils and ruminant fat [36]. Consistent with investigations in type 2 diabetes and in other populations [25], we found an independent relationship between all-C18:1*trans* in the erythrocyte membranes and advanced atherosclerosis ( $\geq 3$  carotid plaques) among T1D patients. Our findings reinforce the notion of avoiding TFAs as a relevant dietary strategy to prevent CVD in this particularly high-risk population.

Interestingly, in our study, no statistical association was found between carotid atherosclerosis and n-3 PUFAs. In this respect, contradictory findings have been found so far, with several previous studies showing inverse associations between biomarkers of n-3 PUFAs intake from either marine

(EPA and DHA) or vegetable origin (ALA) and CVD [30, 31, 39–41], whereas others have showed a direct association with the presence of carotid plaques [31]. Although not observed in other non-selected populations with high fish consumption [40, 41], a possible explanation for our neutral findings on n-3 PUFAs could be the existence of a threshold for CVD prevention in T1D individuals. Our median omega-3 index (the sum of EPA + DHA; 6.84%) is high and similar to that previously reported in other samples from Spanish regions with high seafood consumption [42, 43]. This could reflect the nutritional advice strategies performed in T1D patients in our geographical area, which are focused on the adaptation of a Mediterranean-style eating pattern with high fish consumption [28]. Furthermore, our findings seem to agree with a recent randomized controlled trial in which high doses of n-3 PUFAs (EPA + DHA, 3.3 g/day) over a 6-month period did not decrease carotid intima–media thickness or other measures of vascular function (artery flow mediated dilatation) in patients with T1D [44]. Notwithstanding, it cannot be ruled out that very high doses (i.e., 4 g/day) of a specific n-3 PUFA (EPA) over a long time period (i.e., REDUCE-IT trial [45]) could be beneficial for CVD prevention in this specific high-risk population. The null associations between ALA and carotid atherosclerosis in our study deserves a comment. Although previous reports have shown an inverse association between this biomarker of intake with CVD (both in a previous study from our research group in subjects with dyslipidaemia [41], and in a large pooling study [39]), other recent studies have shown a direct association with carotid atherosclerosis progression [31]. Altogether, it suggests that further studies are needed to elucidate the exact role of n-3 PUFAs (either from marine or vegetal origin, or both) [46] on ateroprotection in T1D individuals at high CVD risk.

Several strengths and limitations should be acknowledged in this study. One of the main strengths is that, to our knowledge, this is the first study to approach the topic using a gold-standard lipidomic technique. Methods based on self-reported data, which have been and remain the most common measure of exposure to dietary FA in epidemiological studies, have several limitations that affect both the accuracy and precision of the measurement. These limitations include, among others, interviewer bias, under- or over-reporting, incorrect portion size estimations and the need of updated food composition databases. These limitations can be circumvented by the use of circulating biomarkers of FA intake [15]. Furthermore, the robustness of our results also lies on the assessment of the carotid plaque, an independent predictor of CVD events [16], and the inclusion of major confounders in multivariate analyses. However, the study also has limitations. First, causality cannot be established because of the cross-sectional nature of the study. Additionally, the inclusion of a

relatively small sample of patients from only one tertiary center could not be representative of other geographic areas or medical centers, precluding generalization to wider populations. Finally, dietary data other than FA (especially total energy intake) and some potential confounding variables like socioeconomic status, or education were not available; therefore, we could not exclude the possibility that health-related variables that may covary with FA might have affected the study outcomes.

## Conclusion

In summary, in Mediterranean patients with T1D at high CVD risk, LA proportion in erythrocyte membranes was inversely associated with preclinical atherosclerosis, while a possible direct association with all-C18:1*trans* was suggested. These findings support the fact that medical nutrition therapy plays a significant role, not only in glycemic management, but also in preventing chronic complications among T1D population. Longitudinal studies with hard CVD outcomes as well as the replication of our results in other centers and regions are needed. Our results emphasize the notion that integrating nutrition counseling into the medical management of T1D could be crucial to address the residual cardiovascular risk of this high-risk population.

**Supplementary Information** The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s00394-021-02611-2>.

**Acknowledgements** A.J.A received a research grant from the Associació Catalana de Diabetis (ACD), “Ajut per a la recerca en diabetis modalitat clínica 2018”. AS-V is recipient of the Instituto de Salud Carlos III Miguel Servet fellowship (grant CP III7/00029).

**Author contributions** All authors have discussed the results and commented on the final version of the manuscript. AM, LB, TS, CV, JB, IV, MG, E.E. and IC: Acquired and processed all clinical data; AJA: Performed the US measurements; MC and GC: Supervised all laboratory procedures. AM, AS, VP and AJA: Participated in data analysis and interpretation; wrote, reviewed and edited the manuscript. AJA and EO: Contributed to the study concept and design. MG, IC, EO, VP, AS-V and AJA: Supervised the study and participated in data analysis and interpretation. AM and AJA: Wrote the manuscript, designed the figures and had final responsibility for the decision to submit for publication. AJA and EO: Are the guarantors of this work and, as such, had full access to all the data in the study and take responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

**Funding** The authors do not declare any sources of funding for the work reported in the paper.

**Data availability** All data generated or analyzed during this study are included in this published article.

**Code availability** Not applicable.

## Declarations

**Conflicts of interest** The authors declare that they have no conflict of interest.

**Ethical approval** All participants provided written informed consent, and the study protocol and procedures were approved according to the ethical standards of the Declaration of Helsinki.

## References

1. International Diabetes Federation (2019) IDF diabetes atlas, 9th edn. International Diabetes Federation, Brussels
2. Katsarou A, Gudbjörnsdóttir S, Rawshani A et al (2017) Type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primers* 3:1–18. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.16>
3. Lachin JM, Orchard TJ, Nathan DM (2014) Update on cardiovascular outcomes at 30 years of the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study. *Diabetes Care* 37:39–43. <https://doi.org/10.2337/dc13-2116>
4. Lind M, Svensson A-M, Kosiborod M et al (2014) Glycemic control and excess mortality in type 1 diabetes. *N Engl J Med* 371:1972–1982. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1408214>
5. Viñals C, Conget I, Pané A et al (2020) Steno type 1 risk engine and preclinical atherosclerosis in Mediterranean individuals with type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3320>
6. Pané A, Conget I, Boswell L et al (2020) Insulin resistance is associated with preclinical carotid atherosclerosis in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3323>
7. Evert AB, Dennison M, Gardner CD et al (2019) Nutrition therapy for adults with diabetes or prediabetes: a consensus report. *Diabetes Care* 42:731–754. <https://doi.org/10.2337/dci19-0014>
8. American Diabetes Association (2019) 5. Lifestyle management: standards of medical care in diabetes-2019. *Diabetes Care* 42:S46–S60. <https://doi.org/10.2337/dc19-S005>
9. Díaz-López A, Babio N, Martínez-González MA et al (2015) Mediterranean diet, retinopathy, nephropathy, and microvascular diabetes complications: a post hoc analysis of a randomized trial. *Diabetes Care* 38:2134–2141. <https://doi.org/10.2337/dc15-1117>
10. De Souza RJ, Mente A, Maroleanu A et al (2015) Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ* 351:1–16. <https://doi.org/10.1136/bmj.h3978>
11. Neuenschwander M, Barbaresko J, Pischke CR et al (2020) Intake of dietary fats and fatty acids and the incidence of type 2 diabetes: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective observational studies. *PLoS Med* 17:1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003347>
12. Merino J, Guasch-Ferré M, Ellervik C et al (2019) Quality of dietary fat and genetic risk of type 2 diabetes: individual participant data meta-analysis. *BMJ* 366:14292. <https://doi.org/10.1136/bmj.14292>
13. Granado-Casas M, Ramírez-Morros A, Martín M et al (2018) Type 1 diabetic subjects with diabetic retinopathy show an unfavorable pattern of fat intake. *Nutrients* 10:1–10. <https://doi.org/10.3390/nu10091184>
14. Snell-Bergeon JK, Chartier-Logan C, Maahs DM et al (2009) Adults with type 1 diabetes eat a high-fat atherogenic diet that is associated

- with coronary artery calcium. *Diabetologia* 52:801–809. <https://doi.org/10.1007/s00125-009-1280-4>
15. Hodson L, Skeaff CM, Fielding BA (2008) Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake. *Prog Lipid Res* 47:348–380. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2008.03.003>
  16. Baber U, Mehran R, Sartori S et al (2015) Prevalence, impact, and predictive value of detecting subclinical coronary and carotid atherosclerosis in asymptomatic adults: the bioimage study. *J Am Coll Cardiol* 65:1065–1074. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.01.017>
  17. Jellinger PS, Handelsman Y, Rosenblit PD et al (2017) AACE 2017 guidelines American Association Of Clinical Endocrinologists And American College Of Endocrinology Guidelines for management of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease. *Endocr Pract* 23:1–87. <https://doi.org/10.4158/EP171764.APPGL>
  18. NICE (2018) Cardiovascular disease: risk assessment and reduction, including lipid modification. NICE Guidel 1:1–44
  19. Mach F, Baigent C, Catapano AL et al (2020) 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J* 41:111–188. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz455>
  20. Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL et al (2019) 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APHA/ASPC/NLA/PCNA guideline on the management of blood cholesterol. *J Am Coll Cardiol* 73(24):3168–3209. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.11.003>
  21. American Diabetes Association (2020) 10. Cardiovascular disease and risk management: standards of medical care in diabetes-2020. *Diabetes Care* 43:S111–S134. <https://doi.org/10.2337/dc20-S010>
  22. Clarke WL, Cox DJ, Gonder-Frederick LA et al (1995) Reduced awareness of hypoglycemia in adults with IDDM. A prospective study of hypoglycemic frequency and associated symptoms. *Diabetes Care* 18:517–522
  23. Jansa M, Quirós C, Giménez M et al (2015) Análisis psicométrico de las versiones en lengua castellana y catalana de un cuestionario de percepción de la hipoglucemia. *Med Clin (Barc)* 144:440–444. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2013.11.036>
  24. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH et al (2009) A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 150:604–612
  25. Herreras Z, Cofán M, Catalan M et al (2016) The proportion of total C18:1 trans-fatty acids in red blood cell membranes relates to carotid plaque prevalence. *J Nutr Biochem* 38:81–85. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.08.004>
  26. Amor AJ, Vinagre I, Valverde M et al (2020) Preeclampsia is associated with increased preclinical carotid atherosclerosis in women with type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgz031>
  - undefined Touboul P-J, Hennerici MG, Meairs S (2012) Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004–2006–2011): an update. *Cerebrovasc Dis* 34:290–296. <https://doi.org/10.1159/000343145.Mannheim>
  28. Granado-Casas M, Alcubierre N, Martín M et al (2019) Improved adherence to Mediterranean diet in adults with type 1 diabetes mellitus. *Eur J Nutr* 58:2271–2279. <https://doi.org/10.1007/s00394-018-1777-z>
  29. Innes JK, Calder PC (2018) Omega-6 fatty acids and inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 132:41–48. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2018.03.004>
  30. Steffen BT, Guan W, Stein JH et al (2018) Plasma n-3 and n-6 fatty acids are differentially related to carotid plaque and its progression: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 38:653–659. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.117.310366>
  31. Ding D, Zhong Q, Zuo L et al (2020) Association between erythrocyte membrane n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids and carotid atherosclerosis: a prospective study. *Atherosclerosis* 298:7–13. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.02.013>
  32. Marklund M, Wu JHY, Imamura F et al (2019) Biomarkers of dietary omega-6 fatty acids and incident cardiovascular disease and mortality: an individual-level pooled analysis of 30 cohort studies. *Circulation* 139:2422–2436. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.038908>
  33. Borges MC, Schmidt AF, Jefferis B et al (2020) Circulating fatty acids and risk of coronary heart disease and stroke: individual participant data meta-analysis in up to 16 126 participants. *J Am Heart Assoc* 9:e013131. <https://doi.org/10.1161/JAHA.119.013131>
  34. Li J, Guasch-Ferré M, Li Y, Hu FB (2020) Dietary intake and biomarkers of linoleic acid and mortality: systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Am J Clin Nutr* 112:150–167. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqz349>
  35. Sacks FM, Lichtenstein AH, Wu JHY et al (2017) Dietary fats and cardiovascular disease: a presidential advisory from the American Heart Association. *Circulation* 136:e1–e23. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000510>
  36. Michas G, Micha R, Zampelas A (2014) Dietary fats and cardiovascular disease: putting together the pieces of a complicated puzzle. *Atherosclerosis* 234:320–328. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.03.013>
  37. Liang J, Zhou Q, Kwame Amakye W et al (2018) Biomarkers of dairy fat intake and risk of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Crit Rev Food Sci Nutr* 58:1122–1130. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1242114>
  38. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL et al (2016) 2016 European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J* 37(29):2315–2381
  39. Del Gobbo LC, Imamura F, Aslibekyan S et al (2016)  $\omega$ -3 Polyunsaturated fatty acid biomarkers and coronary heart disease: pooling project of 19 cohort studies. *JAMA Intern Med* 176:1155–1166. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2016.2925>
  40. Sekikawa A, Curb JD, Ueshima H et al (2008) Marine-derived n-3 fatty acids and atherosclerosis in Japanese, Japanese-American, and white men. A cross-sectional study. *J Am Coll Cardiol* 52:417–424. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2008.03.047>
  41. Sala-Vila A, Cofán M, Pérez-Heras A et al (2010) Fatty acids in serum phospholipids and carotid intima-media thickness in Spanish subjects with primary dyslipidemia. *Am J Clin Nutr* 92:186–193. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.28807>
  42. Saadatian-Elahi M, Slimani N, Chajès V et al (2009) Plasma phospholipid fatty acid profiles and their association with food intakes: results from a cross-sectional study within the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Am J Clin Nutr* 89:331–346. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26834>
  43. Sala-Vila A, Harris WS, Cofán M et al (2011) Determinants of the omega-3 index in a Mediterranean population at increased risk for CHD. *Br J Nutr* 106:425–431. <https://doi.org/10.1017/S0007114511000171>
  44. O'Mahoney LL, Dunseath G, Churm R et al (2020) Omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation versus placebo on vascular health, glycaemic control, and metabolic parameters in people with type 1 diabetes: a randomised controlled preliminary trial. *Cardiovasc Diabetol* 19:127. <https://doi.org/10.1186/s12933-020-01094-5>
  45. Bhatt DL, Steg PG, Miller M et al (2019) Cardiovascular risk reduction with icosapent ethyl for hypertriglyceridemia. *N Engl J Med* 380:11–22. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1812792>
  46. Bazarbashi N, Miller M (2020) Icosapent ethyl: niche drug or for the masses? *Curr Cardiol Rep* 22(10):104. <https://doi.org/10.1007/s11886-020-01356-4>



## **ARTÍCULO 2: LA EXPOSICIÓN A HIPERGLUCEMIA E HIPOGLUCEMIA MEDIDA POR MONITORIZACIÓN CONTINUA DE GLUCOSA SE ASOCIA DE MANERA DISTINTA A LAS COMPLICACIONES MICRO Y MACROVASCULARES EN PERSONAS CON DIABETES TIPO 1**

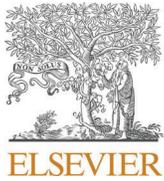
**OBJETIVOS:** Se dispone de poca información sobre la asociación entre datos glucométricos obtenidos mediante MCG y la presencia de complicaciones crónicas en pacientes con DT1. Evaluamos la asociación entre datos de MCG y la presencia de aterosclerosis preclínica y complicaciones microvasculares en esta población.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Seleccionamos pacientes con DT1 sin ECV y con alguna de las siguientes características:  $\geq 40$  años, nefropatía diabética o  $\geq 10$  años de evolución más otro factor de RCV. Se obtuvieron datos glucométricos a partir de descargas de 14 días consecutivos: glucemia media, coeficiente de variación, GMI, TBR  $< 54$ , TBR  $< 70$ , TIR, TAR  $> 180$ . Se evaluó mediante ecografía carotídea la presencia de placas (grosor de íntima-media  $\geq 1,5$  mm) y la percepción a las hipoglucemias mediante test de Clarke. Se crearon modelos de regresión logística ajustados por sensor de MCG, edad, sexo, años de evolución de DT1 y otros factores de RCV para evaluar la asociación entre datos glucométricos y la presencia de complicaciones crónicas.

**RESULTADOS:** Se incluyeron 152 pacientes (54,6% hombres, edad media  $48,7 \pm 10,0$  años, evolución DT1  $28,6 \pm 11,3$  años, HbA<sub>1c</sub> media 7,31% [6,86-7,89]). 67 (44,1%) pacientes presentaron placas carotideas y 71 (46,7%) complicaciones microvasculares. La descarga de datos de MCG mostró los siguientes resultados globales: TIR  $61,3 \pm 15,3\%$ , TBR $<54$   $1,0 \pm 1,5\%$ , TAR  $>180$   $33,3 \pm 15,7\%$ , GMI  $7,11 \pm 0,71\%$ . Tanto TAR (OR 1,28 [1,09-1,51]) como GMI (OR 3,05 [1,46-6,36]) se asociaron directamente con la presencia de complicaciones microvasculares, mientras que TIR se relacionó inversamente (OR 0.79 [0.66-0.93]). El TBR $<54$  (OR 1.51 [1,07-2,13]) y una percepción alterada a las hipoglucemias (OR 4.23 [1.17-15.30]) se asociaron directamente con la presencia de placas, incluso tras ajustar por la HbA<sub>1c</sub> media de los últimos 5 años.

**CONCLUSIONES:** Los datos glucométricos de exposición a hiperglucemia se asociaron independientemente a la presencia de complicaciones microvasculares. Solo los datos de exposición a hipoglucemia se asociaron significativamente a la presencia de aterosclerosis preclínica. Nuestros datos apoyan el papel de la hipoglucemia en el desarrollo de ECV en esta población de alto riesgo.





# Hyperglycemia and hypoglycemia exposure are differentially associated with micro- and macrovascular complications in adults with Type 1 Diabetes

Alex Mesa<sup>a</sup>, Marga Giménez<sup>a,b,c,\*</sup>, Irene Pueyo<sup>a</sup>, Verónica Perea<sup>d</sup>, Clara Viñals<sup>a</sup>, Jesús Blanco<sup>a,b</sup>, Irene Vinagre<sup>a,b</sup>, Tonet Serés-Noriega<sup>a</sup>, Laura Boswell<sup>a,e</sup>, Enric Esmatjes<sup>a,b,c</sup>, Ignacio Conget<sup>a,b,c</sup>, Antonio J. Amor<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Diabetes Unit, Endocrinology and Nutrition Department, ICMDM, Hospital Clínic de Barcelona, Spain

<sup>b</sup> IDIBAPS (Institut d'investigacions biomèdiques August Pi i Sunyer), Barcelona, Spain

<sup>c</sup> CIBERDEM (Centro de Investigación en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas), Madrid, Spain

<sup>d</sup> Endocrinology and Nutrition Department, Hospital Universitari Mútua Terrassa, Terrassa, Spain

<sup>e</sup> Endocrinology and Nutrition Department, Althaia – Xarxa Assistencial Universitària de Manresa, Manresa, Spain

## ARTICLE INFO

### Keywords:

Type 1 Diabetes  
CGM  
Hypoglycemia  
TIR  
Cardiovascular risk  
Chronic complications

## ABSTRACT

**Aims:** Evaluate the relationship between high and low exposure continuous glucose monitoring (CGM)-derived glucometrics and micro- and macrovascular complications in type 1 diabetes (T1D).

**Methods:** Cross-sectional study in T1D without cardiovascular disease (CVD) and with  $\geq 1$  of the following:  $\geq 40$  years, diabetic nephropathy, or  $\geq 10$  years of diabetes duration with CVD risk factors. Glucometrics were obtained over 14 consecutive days: glucose management indicator (GMI) and proportion of time  $< 54$  (TBR  $< 54$ ),  $< 70$ ,  $70$ – $180$  (TIR),  $> 180$  (TAR). Carotid plaque was evaluated by ultrasonography. Logistic regression models adjusted for age, sex, and other risk factors were constructed to test the independent associations with chronic complications.

**Results:** We included 152 patients (54.6% men,  $48.7 \pm 10.0$  years-old). Sixty-seven patients had plaque and  $n = 71$  microvascular complications. TAR (OR 1.28 [1.09–1.51]) and GMI (OR 3.05 [1.46–6.36]) were directly associated with the presence of microvascular complications, while TIR had an inverse relationship (OR 0.79 [0.66–0.93]). TBR  $< 54$  was directly associated with the presence of plaque, even after adjusting for 5-year mean HbA1c (OR 1.51 [1.07–2.13]).

**Conclusions:** High-glucose glucometrics were independently associated with microvascular complications. Only low-glucose exposure glucometrics was significantly associated with preclinical atherosclerosis. Our data support the role of hypoglycemia in the development of CVD in this population.

## 1. Introduction

Tight glycemic control reduces the risk of microvascular complications [1] and cardiovascular disease (CVD) [2] in people living with type 1 diabetes (T1D). Despite this control, this population has a two-eight-fold increased risk of CVD and death [3]. HbA1c, a test that reflects average glycemia over approximately 3 months, is considered the gold standard to assess glycemic control [4] and it is performed routinely in all patients with diabetes. Although it has shown a strong association

with the onset and progression of diabetes chronic complications [5], HbA1c is unreliable in certain situations (anemia, pregnancy, hemodialysis, cirrhosis, and some hemoglobinopathies) and does not provide a measure of glycemic variability or hypoglycemia. Moreover, individuals with apparently good glycemic control (HbA1c  $< 7\%$ ) still have an increased risk of death by CVD causes compared to the general population [6]. Thus, there is a need to analyze other metrics of glycemic control that may be related to a higher cardiovascular risk in this population, such as hypoglycemia exposure or glycemic variability [3].

\* Corresponding authors at: Diabetes Unit, Endocrinology and Nutrition Department, Hospital Clínic de Barcelona, Carrer de Villarroel, 170, 08036 Barcelona, Spain.

E-mail addresses: [gimenez@clinic.cat](mailto:gimenez@clinic.cat) (M. Giménez), [ajamor@clinic.cat](mailto:ajamor@clinic.cat) (A.J. Amor).

<https://doi.org/10.1016/j.diabres.2022.109938>

Received 5 April 2022; Received in revised form 10 May 2022; Accepted 30 May 2022

Available online 1 June 2022

0168-8227/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.

Continuous glucose monitoring (CGM) has become an increasingly useful tool for diabetes self-management and has significantly changed the management of T1D in developed countries, as it facilitates the identification of glucose patterns and provides information about glucose variability and times in range (TIR: 70–180 mg/dL), and below or above the target range. The widespread use of CGM in this population has shown improvement in glycemic control [7–9], a reduction in the number of hypoglycemic events [7,10] and acute complications [8], as well as an increase in patient satisfaction [8]. When using CGM, a 14-day ambulatory glucose profile is recommended to assess glycemic control and the goal established for most adults is a TIR > 70%, with time below range < 70 mg/dL (TBR < 70) < 4% and time below range < 54 mg/dL (TBR < 54) < 1% [4,11]. TIR correlates well with HbA<sub>1c</sub> [12], and there is growing evidence this value is associated with microvascular complications [13,14] and CVD in subjects with type 2 diabetes (T2D) [15]. Conversely, TIR assessed by CGM has only recently been associated with the presence of microvascular complications in a single cohort of 515 T1D patients [16]. In relation to low-glucose exposure, hypoglycemia assessed by CGM has not been evaluated as a cardiovascular risk factor in previous studies, despite having been related to CVD in observational studies based on self-reported frequencies [17,18].

The aim of our study was to explore the relationship between high and low glucose exposure glucometrics obtained by CGM and the presence of micro- and macrovascular complications in a cohort of adults with T1D.

## 2. Subjects, materials and methods

### 2.1. Study design and patients

We conducted a cross-sectional study in subjects with T1D followed at the Diabetes Unit of a tertiary hospital. We included consecutive participants with no previous history of CVD (coronary artery disease, ischemic stroke, peripheral artery disease, or heart failure) and with high CVD risk according to the main CVD prevention guidelines [19–24]: a) age ≥ 40 years; b) presence of any stage of diabetic nephropathy; or c) ≥ 10 years of duration of diabetes and at least one additional CVD risk factor: family history of premature CVD (defined as any CVD occurring before 55 years of age in men and before 65 years of age in women [22]), active smoking habit, hypertension, low HDL-cholesterol levels (<40 mg/dL in males, <45 mg/dL in females), high triglyceride levels (>150 mg/dL), being already on statins, a former episode of preeclampsia/eclampsia, the presence of diabetic retinopathy, impaired hypoglycemia awareness or a previous episode of severe hypoglycemia in the last two years. Furthermore, all patients had to be users of an intermittently scanned (isCGM) or real-time (rtCGM) CGM system with CE Mark approval by the European Union.

The criteria for T1D included past or present positivity for glutamic acid decarboxylase 65, tyrosine-phosphatase-like protein IA2 or insulin antibodies (only considered in insulin-naïve patients), the occurrence of diabetic ketosis or ketoacidosis following the onset of classical hyperglycemia symptoms, and/or the need for continuous insulin treatment. Patients with clinical suspicion of latent autoimmune diabetes in adults (LADA), monogenic diabetes, or prior pancreatic diseases (pancreatitis, surgery) were excluded.

The study protocol was conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki. Appropriate institutional review board approval was obtained to perform this analysis. Patients were included after providing informed consent.

### 2.2. Clinical and laboratory measures

We obtained clinical data including age, sex, family history of premature CVD in first-degree relatives, smoking habit, the presence of hypertension, as well as the use of certain medications (antihypertensive, lipid-lowering, antiplatelet, or non-insulin antidiabetic agents).

Furthermore, diabetes-specific clinical variables were recorded: diabetes duration (years), current insulin therapy (continuous subcutaneous insulin infusion or multiple daily insulin injection therapy), the presence of microvascular complications (nephropathy, retinopathy), history of severe hypoglycemia and hypoglycemia awareness according to the Clarke test score (<3: normal; 3: uncertain; >3: impaired awareness [25]).

Anthropometric measures including height, weight, waist, and hip circumference, were also recorded and obtained by standards methods. The body mass index (BMI) was calculated as weight in kilograms divided by square height in meters. Blood pressure was registered using a blood pressure monitor after a few minutes of rest.

Analytical data were obtained using standardized assays to measure serum creatinine, the urinary albumin-to-creatinine ratio, HbA<sub>1c</sub>, and fasting glucose and lipid profile (total cholesterol, triglycerides, and HDL-cholesterol by direct methods; LDL-cholesterol by the Friedewald formula). The glomerular filtration rate was estimated by the Chronic Kidney Disease-Epidemiology Collaboration equation (CKD-EPI). HbA<sub>1c</sub> was measured centrally with the same method (high-performance liquid chromatography and expressed in National Glycohemoglobin Standardization Program/Diabetes Control and Complications Trial units). The values of the last 5 years (median determinations every year: 3) obtained from medical records were used to calculate the mean HbA<sub>1c</sub>.

Diabetic nephropathy was considered if the urinary albumin-to-creatinine ratio was ≥ 30 mg/g confirmed on at least two out of three consecutive determinations, or with the use of angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEi) or angiotensin II receptor blockers (ARB), with no history of hypertension or CVD. The diagnosis of diabetic retinopathy was obtained from medical records and verified by an ophthalmologist. Hypertension was defined as consecutive determinations of clinical systolic blood pressure ≥ 140 mmHg and diastolic blood pressure ≥ 90 mmHg, or as treatment with antihypertensive drugs (except in patients receiving ACEi/ARB for diabetic nephropathy).

### 2.3. Continuous glucose monitoring data

CGM data were obtained from either Dexcom G5 (Dexcom, San Diego, CA, USA), Guardian Sensor 3 (Medtronic-Minimed, Northridge, CA, USA) or FreeStyle Libre (Abbott Diabetes Care, Witney, UK) sensor. CGM-derived glucometrics from 14 consecutive days were collected from uploads from each patient, including mean glucose, coefficient of variation (CV), glucose management indicator (GMI) and proportion (%) of time with glucose concentrations in hypoglycemia (<54 mg/dL (TBR < 54), 54–70 (TBR 54–69) and < 70 mg/dL (TBR < 70)), in range 70–180 mg/dL (TIR) and in hyperglycemia (>180 mg/dL (TAR) and > 250 mg/dL (TAR > 250)). Only downloads with a sensor use > 70% were considered.

### 2.4. Carotid B-mode ultrasound imaging

Bilateral carotid artery ultrasound images were acquired using high-resolution B-mode ultrasound (*Acuson X300* and *Acuson X700* [Siemens]) with an electric linear array 5–10 MHz transducer. Pre-defined and standardized imaging protocols to evaluate carotid intima-media thickness (IMT) and the presence of plaque were carried out as described previously [26,27]. IMT was measured off-line by the same experienced researcher (A.J.A.) using semiautomatic software. Plaque was visualized using B-mode and color Doppler in both longitudinal and transverse planes to evaluate the presence of circumferential asymmetry. Carotid plaques (common carotid, bulb, or internal carotid) were defined as focal echo-structures encroaching into the arterial lumen by at least 50% of the surrounding IMT value or when IMT was at least 1.5 mm as measured from the media adventitia interface to the intima-lumen surface [28]. Peak systolic and end-diastolic velocities were used to evaluate carotid stenosis and the planimetric area was measured at a transversal view when significant plaques (IMT > 2.5 mm) were

found. The consistency (reliability or repeatability) of ultrasound carotid wall measurements was evaluated in paired examinations in 10 individuals. The intraclass correlation coefficient ranged from 0.92 to 0.95 for a mean and maximum IMT for all carotid segments (common, bulb, and internal carotid); 0.97 for a maximum IMT of any carotid segment; and 0.92 for a maximum height of carotid plaque.

### 2.5. Statistical analyses

Data are presented as mean  $\pm$  standard deviation, median and 25th and 75th percentiles or number (percentage). For continuous variables, a Kolmogorov-Smirnov test was used to determine normality. Non-normally distributed variables were log transformed to reduce skewness for some of the analysis. Comparisons of variables according to the presence of carotid plaques were performed using an unpaired Student's *t*-test for normally distributed continuous variables, or the Mann-Whitney *U* test for non-normally distributed variables, as appropriate. Proportions were compared using a chi-square test.

To search for independent relationships between preclinical carotid atherosclerosis (presence of carotid plaques; dependent variable) and hypoglycemia exposure (independent variables: TBR < 54, main outcome; TBR 54–69 and TBR < 70, secondary outcomes); we constructed logistic binary regression models. The first model included age, sex, and the CGM sensor as covariates, and was further adjusted for diabetes-related variables (diabetes duration, mean HbA<sub>1c</sub> in the last 5 years [as a proxy of glycemic exposure [11]] and the urinary albumin-to-creatinine ratio). The second model included the same variables as above, in addition to classic CVD risk factors (systolic blood pressure, LDL-cholesterol, and statin exposure [statin score; see below]). A third model including hypoglycemia unawareness (Clarke test score > 3), as well as the covariates added in the second model, was also constructed for assessing the independent relationship between TBR < 54 and preclinical carotid atherosclerosis. As an exploratory analysis, the same models were applied to assess the independent relationships of other CGM-derived glucometrics (GMI, TIR, TAR, and CV) with preclinical atherosclerosis. Furthermore, logistic binary regression models were also constructed to search for independent relationships between microvascular complications (presence of retinopathy and/or nephropathy; dependent variable) and CGM-derived glucometrics (independent variables), adjusting for the same covariates as above plus current insulin therapy. Additionally, polynomial regression models were constructed to assess the relationship between the severity of chronic complications (number of microvascular complications, severity of retinopathy and number of carotid plaques) and CGM-derived glucometrics. Finally, glucometrics meeting goals according to ADA recommendations [11] were further assessed concerning chronic diabetes complications. Since HbA<sub>1c</sub> in the last 5 years was highly correlated with most of the CGM-derived glucometrics ( $r > 0.5$  for all), only TBR < 54, TBR 54–69, TBR < 70 and CV could be adjusted for this measure of long-term glycemic exposure.

Since many subjects had been treated with hypolipidemic drugs, which could induce regression of IMT and plaque, we adjusted for statin treatment when evaluating associations with atherosclerosis. To this end, for each subject we calculated a statin score, an estimation of lifetime exposure to cholesterol-lowering treatment, as the product of the duration of treatment in years by the average dose received of statin drugs standardized to simvastatin in mg/day [29]. IBM SPSS Statistics version 23.0 (SPSS Inc.; Chicago, IL, USA) was used to perform the statistical analysis. All tests were two-tailed and significance was considered if *p*-value < 0.05.

### 3. Results

A total of 152 patients were included (54.6% men, mean age of 48.7  $\pm$  10.0 years, median HbA<sub>1c</sub> 7.31% [6.86–7.89] (56.4 [51.5–62.7] mmol/mol) and 28.6  $\pm$  11.3 years of diabetes duration). Carotid plaque

**Table 1**

Characteristics of the study participants according to the presence of carotid plaque.

	All participants (n = 152)	No plaque presence (n = 85)	Plaque presence (n = 67)	p-value
<b>Clinical characteristics</b>				
Male	83 (54.6)	44 (51.8)	39 (58.2)	0.428
Age (years)	48.7 $\pm$ 10.0	45.0 $\pm$ 8.3	53.4 $\pm$ 10.1	<0.001
Premature CVD in first-degree relatives*	16 (10.5)	10 (11.8)	6 (9.0)	0.575
Current smokers	30 (19.7)	14 (16.5)	16 (23.9)	0.149
Hypertension	37 (24.3)	13 (15.3)	24 (35.8)	0.003
SBP (mmHg)	128.1 $\pm$ 15.7	124.7 $\pm$ 14.8	132.5 $\pm$ 15.8	0.002
DBP (mmHg)	82.5 $\pm$ 8.6	82.1 $\pm$ 8.7	83.0 $\pm$ 8.6	0.543
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26.2 $\pm$ 3.7	25.8 $\pm$ 3.8	26.8 $\pm$ 3.6	0.112
<b>Waist circumference (cm)</b>				
Female (cm)	86.2 $\pm$ 12.0	84.5 $\pm$ 12.2	88.6 $\pm$ 11.6	0.168
Male (cm)	96.3 $\pm$ 9.2	93.6 $\pm$ 9.3	99.1 $\pm$ 8.3	0.007
T1D duration (years)	28.6 $\pm$ 11.3	27.9 $\pm$ 10.0	29.4 $\pm$ 12.9	0.421
<b>Microvascular complications</b>				
Diabetic nephropathy	71 (46.7)	38 (44.7)	33 (49.3)	0.577
Diabetic retinopathy	15 (9.9)	8 (9.4)	7 (10.4)	0.832
Diabetic nephropathy	64 (42.1)	34 (40.0)	30 (44.8)	0.554
CSII therapy	55 (36.2)	36 (42.4)	19 (28.4)	0.075
<b>CGM sensor</b>				
FreeStyle Libre	105 (69.1)	53 (62.3)	52 (77.6)	0.075
Medtronic Enlite	36 (23.7)	23 (27.1)	13 (19.4)	
Dexcom G5	11 (7.2)	9 (10.6)	2 (3.0)	
Severe hypoglycemia episodes (2 previous years)	36 (23.7)	21 (24.7)	15 (22.4)	0.739
<b>Clarke test</b>				
Result 1–2	100 (67.6)	60 (73.2)	40 (60.6)	0.256
Result 3	10 (6.8)	5 (6.1)	5 (7.6)	
Result $\geq$ 4	38 (25.7)	17 (20.7)	21 (31.8)	
<b>Laboratory characteristics</b>				
Fasting plasma glucose (mg/dL)	161.4 $\pm$ 64.64	162.5 $\pm$ 70.0	160.0 $\pm$ 56.9	0.808
Haemoglobin A1c (5 years) (%)	7.31 (6.86–7.89)	7.17 (6.80–7.64)	7.63 (7.00–8.10)	0.050
Serum creatinine (mg/dL)	0.88 $\pm$ 0.18	0.86 $\pm$ 0.16	0.89 $\pm$ 0.20	0.286
eGFR(CKD-EPI; ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	91.8 $\pm$ 14.2	94.2 $\pm$ 13.1	88.6 $\pm$ 15.0	0.015
Total cholesterol (mg/dL)	190.5 $\pm$ 28.9	190.6 $\pm$ 26.3	190.3 $\pm$ 32.0	0.949
HDL-cholesterol (mg/dL)	61.7 $\pm$ 15.0	63.6 $\pm$ 15.5	59.3 $\pm$ 14.1	0.083
LDL-cholesterol (mg/dL)	112.2 $\pm$ 24.9	111.3 $\pm$ 22.5	113.2 $\pm$ 27.7	0.637
Triglycerides (mg/dL)	73.5 (59.0–95.0)	71.0 (57.0–88.0)	80.0 (63.0–111.0)	0.022
Non-HDL cholesterol (mg/dL)	128.8 $\pm$ 27.1	127.0 $\pm$ 23.1	131.0 $\pm$ 31.5	0.374
<b>Pharmacological treatment</b>				
Statins	58 (38.2)	27 (31.8)	31 (46.2)	0.068
ACEi / ARB	38 (25.0)	16 (18.8)	19 (33.3)	0.048
Antiplatelet drugs	11 (7.2)	2 (2.4)	9 (15.8)	0.009
Statin score	116.4 $\pm$ 217.6	100.9 $\pm$ 230.0	136.0 $\pm$ 200.6	0.326
<b>Glucometric data</b>				
Mean glucose (mg/dL)	159.0 $\pm$ 26.2	157.3 $\pm$ 28.3	161.2 $\pm$ 23.5	0.368
Coefficient of variation (%)	36.5 $\pm$ 5.3	36.6 $\pm$ 5.2	36.4 $\pm$ 5.6	0.818
	7.11 $\pm$ 0.71	7.04 $\pm$ 0.74	7.21 $\pm$ 0.67	0.170

(continued on next page)

**Table 1** (continued)

	All participants (n = 152)	No plaque presence (n = 85)	Plaque presence (n = 67)	p-value
Glucose management indicator (%)				
Time < 54 mg/dL (%)	1.0 ± 1.5	0.9 ± 1.3	1.1 ± 1.6	0.434
Time < 70 mg/dL (%)	5.2 ± 4.5	5.2 ± 4.2	5.1 ± 4.9	0.886
Time 70–180 mg/dL (%)	61.3 ± 15.3	62.5 ± 14.7	59.8 ± 16.1	0.297
Time > 180 mg/dL (%)	33.3 ± 15.7	32.2 ± 15.7	34.6 ± 15.6	0.362
Time > 250 mg/dL (%)	9.1 ± 10.2	9.1 ± 11.2	9.2 ± 8.8	0.952

Data are shown as n (percentage), mean ± standard deviation or median (Q1-Q3).

p values for comparisons between patients with vs. without presence of plaques are reported.

\* Defined as < 55 years in men and < 65 years in women.

ACEi: angiotensin-converting enzyme inhibitor; ARB: angiotensin receptor blocker; BMI: Body Mass Index; CGM: continuous glucose monitoring; CVD: cardiovascular disease; CSII: continuous subcutaneous insulin infusion; DBP: diastolic blood pressure; eGFR: estimated glomerular filtration rate; HDL: high density lipoprotein; LDL: low density lipoprotein; SBP: systolic blood pressure; T1D: type 1 diabetes.

was present in 44.1% (n = 67) of the participants and established microvascular complications (diabetic nephropathy and/or retinopathy) in 46.7% (n = 71). Regarding CGM systems, 69.1% (n = 105) were using Abbott FreeStyle Libre, 23.7% (n = 36) Medtronic Guardian Sensor 3 and 7.2% (n = 11) Dexcom G5. **Table 1** shows the clinical characteristics, laboratory data, and CGM-derived glucometrics of the study population according to the presence of carotid plaques. Subjects with carotid plaques were older and had a higher prevalence of hypertension and higher clinical systolic blood pressure, as well as a larger waist circumference in men. The median HbA<sub>1c</sub> and triglyceride levels were also higher in patients with plaque. Additionally, these patients were more frequent users of antiplatelet drugs and ACEi or ARB. There were no between-group differences in other classical CVD risk factors (smoking habit, BMI, LDL-cholesterol levels, statin use, family history of premature CVD) or other diabetes-specific clinical variables (diabetes duration and presence of microvascular complications).

Multivariate regression models were constructed to evaluate the independent contribution of hypoglycemia (TBR < 54, TBR 54–69, and TBR < 70; Supplementary **Tables 1–3**) in preclinical atherosclerosis. **Fig. 1** summarizes the odds ratio (OR) and 95% confidence interval of the cross-sectional associations of the presence of carotid plaques with low-glucose exposure glucometrics, hypoglycemia awareness, classic CVD risk factors, and diabetes-specific clinical variables. After adjusting for potential confounders, TBR < 54 was directly associated with the presence of plaque [OR 1.51 (1.07–2.13), p = 0.020; 1% increase]. As expected, the mean 5-year HbA<sub>1c</sub> [OR 2.09 (1.11–3.92), p = 0.022; 1% increase] and age [OR 2.05 (1.43–2.92), p < 0.001; 5-year increase] were also independently and directly associated with the presence of plaque. Although no statistically significant association was found between other low-glucose exposure glucometrics (TBR < 70 and TBR 54–69) and preclinical atherosclerosis, impaired awareness of hypoglycemia was also directly related to the presence of carotid plaques [OR 4.23 (1.17–15.30), p = 0.028; Clarke test > 3]. We further evaluated whether CGM-assessed hypoglycemia exposure was directly associated with the severity of preclinical atherosclerosis (number of carotid plaques), but no relationship was observed. No statistically significant association with preclinical atherosclerosis was observed in relation to other CGM-derived glucometrics assessed as an exploratory analysis (TIR, GMI, CV and TAR), either.

**Table 2**

Characteristics of the study participants according to the presence of microvascular complications.

	No microvascular complications (n = 81)	Microvascular complications presence (n = 71)	p-value
<b>Clinical characteristics</b>			
Male (%)	48 (59.3)	35 (49.3)	0.218
Age (years)	48.7 ± 10.0	48.8 ± 10.1	0.970
Premature CVD in first-degree relatives* (%)	10 (12.3)	6 (8.5)	0.435
Current smokers (%)	15 (18.5)	15 (21.1)	0.358
Hypertension (%)	13 (16.0)	24 (33.8)	<b>0.011</b>
SBP (mmHg)	127.2 ± 16.3	129.2 ± 15.1	0.438
DBP (mmHg)	83.4 ± 8.8	81.5 ± 8.3	0.194
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25.9 ± 3.4	26.6 ± 4.1	0.227
Waist circumference (cm)			
Female (cm)	83.2 ± 9.4	88.9 ± 13.6	<b>0.048</b>
Male (cm)	96.0 ± 9.8	96.7 ± 8.4	0.726
T1D duration (years)	23.5 ± 10.0	34.4 ± 9.9	<b>&lt;0.001</b>
Carotid plaque presence (%)	34 (42.0)	33 (46.5)	0.577
CSII therapy (%)	22 (27.2)	33 (46.5)	<b>0.013</b>
CGM sensor (%)			
FreeStyle Libre	59 (72.8)	46 (64.8)	0.249
Medtronic Enlite	15 (18.5)	21 (29.6)	
Dexcom G5	7 (8.6)	4 (5.6)	
Severe hypoglycemia episodes (2 previous years) (%)	17 (21.0)	19 (26.8)	0.404
Clarke test			
Result 1–2	52 (64.2)	48 (67.6)	0.583
Result 3	4 (4.9)	6 (8.5)	
Result ≥ 4	22 (27.2)	16 (22.5)	
<b>Laboratory characteristics</b>			
Fasting plasma glucose (mg/dL)	157.2 ± 62.8	166.3 ± 66.3	0.386
Haemoglobin A1c (5 years) (%)	7.17 (6.81–7.70)	7.52 (7.00–8.13)	<b>0.023</b>
Serum creatinine (mg/dL)	0.87 ± 0.16	0.88 ± 0.20	0.632
eGFR(CKD-EPI; ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	92.9 ± 11.60	90.44 ± 16.6	0.287
Total cholesterol (mg/dL)	190.9 ± 30.1	190.0 ± 27.6	0.839
HDL-cholesterol (mg/dL)	60.7 ± 15.7	62.9 ± 14.2	0.358
LDL-cholesterol (mg/dL)	114.0 ± 26.7	110.1 ± 22.7	0.343
Triglycerides (mg/dL)	73.0 (58.5–93.0)	76.0 (61.0–97.0)	0.745
Non-HDL cholesterol (mg/dL)	130.3 ± 27.5	127.1 ± 26.6	0.468
<b>Pharmacological treatment</b>			
Statins (%)	28 (34.6)	30 (42.3)	0.330
ACEi / ARB (%)	8 (9.8)	30 (42.3)	<b>&lt;0.001</b>
Antiplatelet drugs (%)	2 (2.5)	9 (12.7)	<b>0.015</b>
Statin score	113.9 ± 241.8	119.2 ± 187.8	0.883
<b>Glucometric data</b>			
Mean glucose (mg/dL)	154.7 ± 21.9	163.9 ± 29.9	<b>0.033</b>
Coefficient of variation (%)	36.3 ± 5.1	36.7 ± 5.6	0.673
Glucose management indicator (%)	7.0 ± 0.7	7.3 ± 0.8	<b>0.032</b>
Time < 54 mg/dL (%)	0.9 ± 1.3	1.1 ± 1.6	0.445
Time < 70 mg/dL (%)	5.3 ± 4.6	5.1 ± 4.5	0.789
Time 70–180 mg/dL (%)	63.1 ± 14.4	59.2 ± 16.2	0.131
Time > 180 mg/dL (%)	31.1 ± 13.6	35.7 ± 17.4	0.084
Time > 250 mg/dL (%)	6.4 ± 5.5	11.8 ± 12.8	<b>0.004</b>

Data are shown as n (percentage), mean ± standard deviation or median (Q1-Q3).

p values for comparisons between patients with vs. without presence of plaques are reported.

\* Defined as < 55 years in men and < 65 years in women.

ACEi: angiotensin-converting enzyme inhibitor; ARB: angiotensin receptor blocker; BMI: Body Mass Index; CGM: continuous glucose monitoring; CVD:

cardiovascular disease; CSII: continuous subcutaneous insulin infusion; DBP: diastolic blood pressure; eGFR: estimated glomerular filtration rate; HDL: high density lipoprotein; LDL: low density lipoprotein; SBP: systolic blood pressure; T1D: type 1 diabetes.

The characteristics of the participants according to the presence of microvascular complications were also compared (Table 2). As expected, subjects with microvascular complications had a longer duration of diabetes, a higher median HbA<sub>1c</sub>, a higher prevalence of hypertension, as well as a larger waist circumference in women. These patients were also more likely to be using antiplatelet drugs and ACEi or ARB. Regarding CGM-derived glucometrics, mean glucose, GMI and TAR > 250 were higher in patients with microvascular complications.

Logistic binary regression models were also constructed to search for independent relationships between a composite of microvascular complications (retinopathy and/or nephropathy) and CGM-derived glucometrics variables (TIR, TAR, TBR < 70, TBR < 54, CV and GMI; Supplementary Table 4). After adjusting for potential confounders, TAR [OR 1.28 (1.09–1.51), p = 0.003; 5% increase] and GMI [OR 3.05 (1.46–6.36), p = 0.003; 1% increase] were directly associated with the presence of microvascular complications, while an inverse relationship was observed in the case of TIR [OR 0.79 (0.66–0.93), p = 0.005; 5% increase] (Fig. 2). Furthermore, in polynomial regression models, TIR was associated with a stepped decrease in retinopathy severity [OR 0.82 (0.69–0.98) and OR 0.74 (0.59–0.93), for non-proliferative and proliferative retinopathy, respectively; p < 0.05 for all comparisons; 1% increase] and number of microvascular complications [OR 0.80 (0.67–0.96) and OR 0.70 (0.53–0.92), for 1 and 2 microvascular complications, respectively; p < 0.05 for all comparisons; 1% increase].

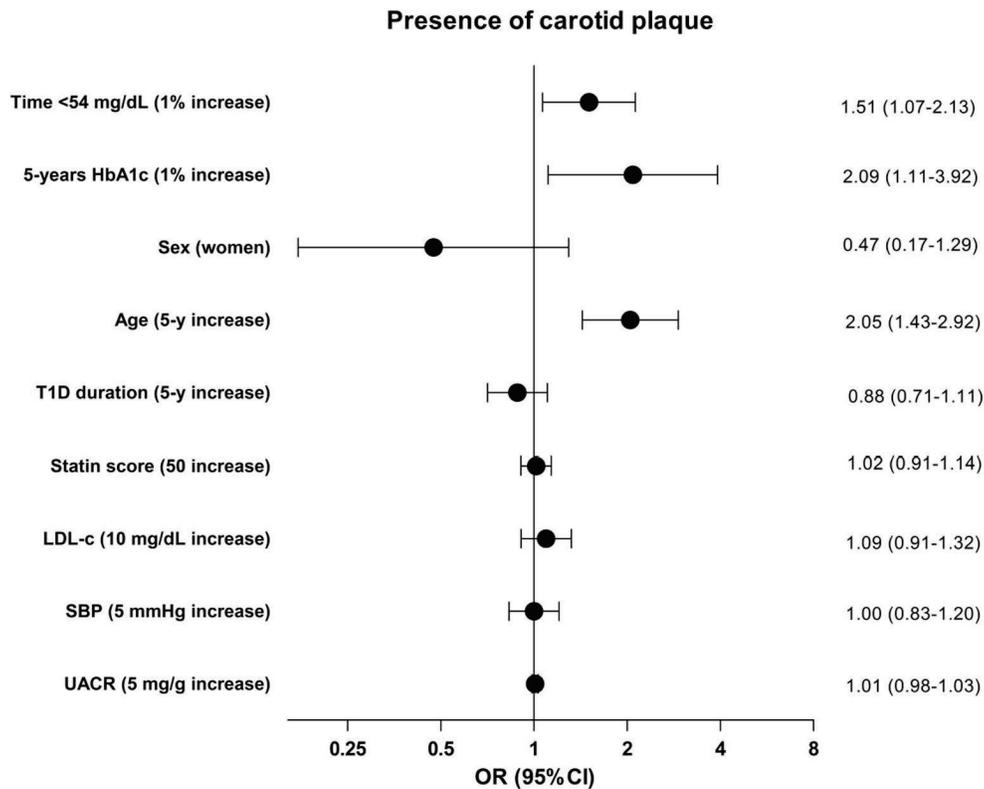
Conversely, a stepped increase was observed when analyzing GMI and TAR in relation to severity of microvascular complications (p < 0.05 for all comparisons, Supplementary Tables 5–6). We did not find an association between other CGM-derived glucometrics (TBR < 70, TBR < 54 and CV) and the presence of diabetic retinopathy and/or nephropathy.

Finally, we also evaluated whether achieving clinical targets for CGM data was independently and inversely associated with the presence of preclinical carotid atherosclerosis or a composite of microvascular complications (retinopathy and/or nephropathy). Reaching a TIR > 70% was inversely associated with the presence of microvascular complications [OR 0.32 (0.11–0.93), p = 0.036], while no significant association was found between achieving other CGM-based glycemic targets and the presence of diabetes complications.

#### 4. Discussion

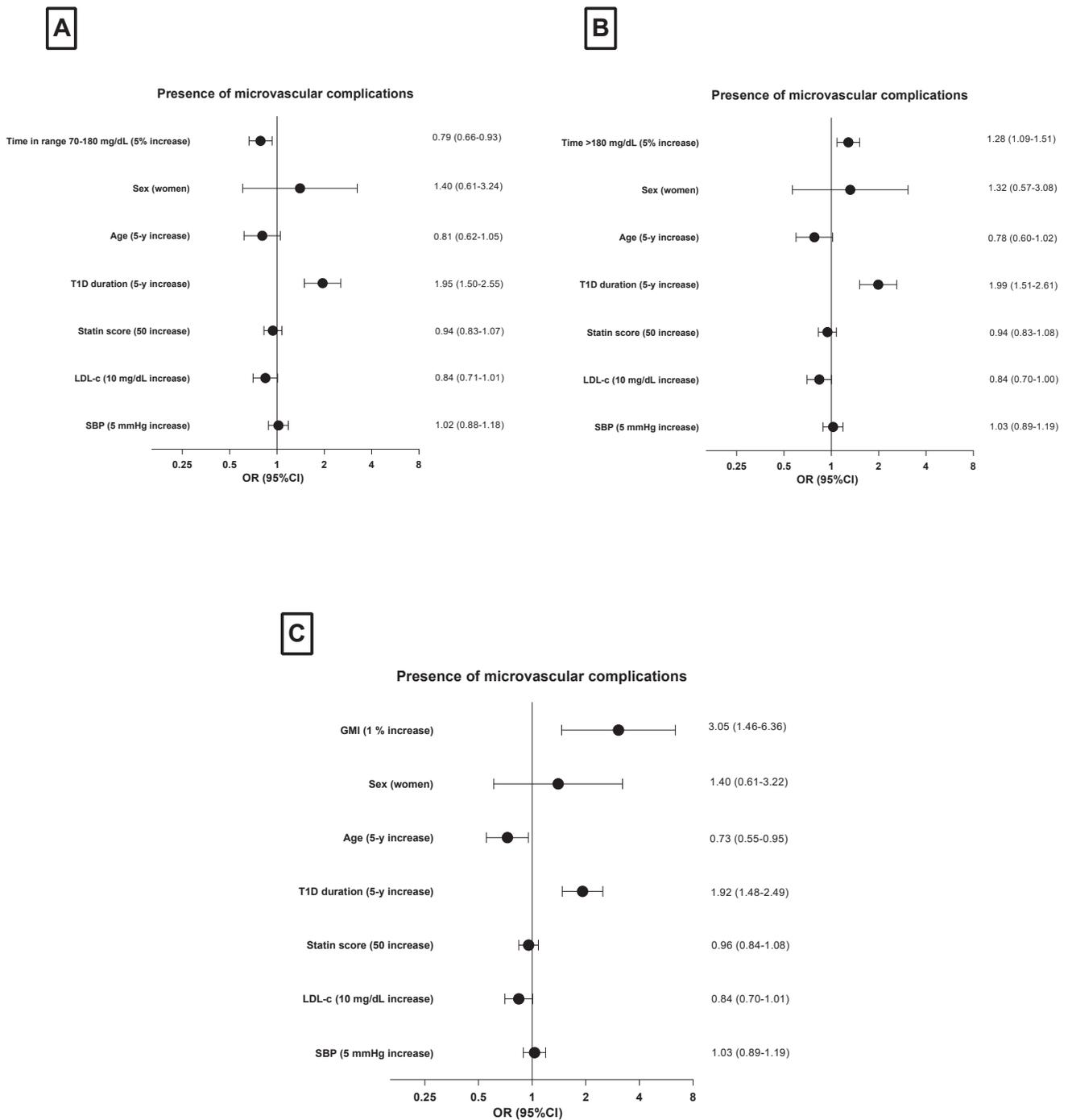
In our sample of participants with T1D at high CVD risk, low-glucose exposure was significantly associated with the presence of carotid plaques (a surrogate marker of future cardiovascular events) and high-glucose exposure was associated with a composite of microvascular complications. As far as we are aware, this is the first study to assess the effect of CGM-derived hypoglycemic metrics and preclinical atherosclerosis in individuals with T1D, even after accounting for long-term mean HbA<sub>1c</sub>.

Despite having reduced the risk of chronic complications, intensive insulin therapy is also associated with an increased risk of hypoglycemia [1], the most common complication of T1D and a major limiting factor in the glycemic management of T1D. Severe hypoglycemia, defined as an episode requiring assistance, is not only a cause of seizures, coma and



SBP, systolic blood pressure; T1D, type 1 diabetes; UACR, urinary albumin-to-creatinine ratio

Fig. 1. Variables independently associated with the presence of carotid plaque (logistic regression analysis). Logistic regression model (odds ratio and 95% confidence interval) is shown for the presence of carotid plaque. The model included as covariates: classic CVD risk factors (age, sex, systolic blood pressure, LDL-cholesterol and statin exposure), diabetes-related variables (diabetes duration, mean HbA<sub>1c</sub> in the last 5 years and albumin-to-creatinine ratio) and the CGM sensor used.



**Fig. 2.** Variables independently associated with the presence of microvascular complications (retinopathy and/or nephropathy) (logistic regression analysis). Logistic regression models (odds ratio and 95% confidence interval) are shown for the presence of microvascular complications (retinopathy and/or nephropathy). Different models are depicted for the relationship between CGM-derived hyperglycemia exposure metrics (A: time in range 70–180 mg/dL; B: time above 180 mg/dL; C: glucose management indicator) and the presence of microvascular complications, adjusting for classic CVD risk factors (age, sex, systolic blood pressure, LDL-cholesterol and statin exposure), diabetes duration and the CGM sensor used. SBP: systolic blood pressure; T1D: type 1 diabetes.

cardiac arrhythmias resulting in sudden death [30], but has also been described as a factor suspected of promoting CVD. Even though the mechanisms by which hypoglycemia causes atherosclerosis are not fully understood, experimental studies have demonstrated the presence of inflammatory markers and endothelial dysfunction in both healthy individuals and subjects with T1D during acute hypoglycemia [31,32]. Clinical evidence linking hypoglycemia with CVD has predominantly been obtained in studies in patients with T2D [33], but the risk of hypoglycemic episodes is greater in T1D, and growing evidence has also

identified hypoglycemia as a potential cardiovascular risk factor in this population [3]. In a retrospective study including 3260 patients with T1D performed in the United Kingdom [18], hypoglycemia was significantly related to an increased risk of CVD events, and in a retrospective analysis of a national registry in Spain including 1510 subjects with T1D on insulin pump therapy [17] severe hypoglycemia was an independent risk factor for CVD. Conversely, no differences were observed in the EURODIAB Prospective Complications Study [34], which assessed both fatal/nonfatal CVD in 2181 patients with T1D over 7.3 years of follow-

up. However, data on hypoglycemia relied on self-reported information, the results were not adjusted for the long-term cumulative effect of hyperglycemia and deleterious effects could have been underestimated, as “hard” endpoints were evaluated in a young cohort. Regarding indirect evidence, repeated severe hypoglycemia episodes have also been associated with increased IMTs at carotid and femoral sites [32] and with an elevated coronary artery calcium score [35], while hypoglycemia exposure assessed by CGM has been related to impaired vascular endothelial function in children with T1D [36].

We found a direct association between TBR < 54 and the prevalence of carotid plaque in a high cardiovascular risk T1D population, even after adjusting for several confounders closely related to atherosclerosis (age, sex, systolic blood pressure and LDL-cholesterol) and glycemic burden (mean HbA<sub>1c</sub>, diabetes duration and urinary albumin-to-creatinine ratio). We also found that hypoglycemia unawareness was independently associated with the presence of carotid plaque, which is in concordance with the fact that repeated episodes of hypoglycemia lead to impaired hypoglycemia awareness, and both conditions predispose to future severe hypoglycemic episodes [37]. No association was found with the presence of severe hypoglycemia in the previous 2 years, but this should be interpreted with caution since it was collected as a dichotomous variable and it is a self-reported measure that is usually underestimated [38]. Notwithstanding, the relationship between severe hypoglycemia and CVD in previous studies could also be explained by an associated major degree of chronic low glucose exposure and not by the episodes of severe hypoglycemia themselves. Thus, time in hypoglycemia assessed by CGM and hypoglycemia unawareness could be a better proxy for cardiovascular hypoglycemia-mediated disease than episodes of severe hypoglycemia.

TIR assessed by CGM strongly correlates with HbA<sub>1c</sub> [12], and recent cross-sectional data and cohort studies have also associated an increased TIR with the risk of microvascular complications [13,14], carotid IMT [39] and CVD and all-cause mortality in T2D patients [15]. In contrast to the abundant research data in T2D patients, TIR assessed by CGM has only been associated with a composite of microvascular complications and with hospitalization for hypoglycemia or ketoacidosis in a single cohort study with 515 subjects with T1D [16]. In line with this, our findings also suggest that TIR is inversely associated with the presence and severity of microvascular complications in this population. Additionally, we corroborated that achieving the recommended target of TIR for most adults (TIR > 70%) [11] is also inversely related to microvascular complications. Finally, we found that other high-glucose exposure glucometrics, such as GMI and TAR, are also independently associated with the risk and severity of microvascular complications.

Our study has some limitations. First, the association was based on a cross-sectional analysis of a single 14-day ambulatory glucose profile, and thus, causality cannot be established. Additionally, the inclusion of a relatively small sample of patients from only one tertiary center may not be representative of other geographic areas or medical centers, precluding generalization to wider populations. Moreover, patients with macroangiopathy might be underrepresented and those with microangiopathy overrepresented in the study group, as individuals with recognized CVD were not included whereas diabetic nephropathy was one of the inclusion criteria. Thus, the underrepresentation of patients with macroangiopathy could be a plausible explanation for the lack of association between hypoglycemia exposure and the severity of pre-clinical atherosclerosis. Finally, despite being included as a confounder in all the logistic regression analyses, three different glucose sensors were used to obtain CGM-derived glucometrics.

This study also has several strengths, one of the main strengths being that, to our knowledge, this is the first study to link hypoglycemia assessed by CGM to CVD. The use of CGM not only circumvented the limitations of self-reported data, but also provided a complete glucose profile. Furthermore, the robustness of our results also lies in the assessment of carotid plaque, an independent predictor of CVD events [40], and the addition of major confounders in multivariate analyses,

including age and glycemic exposure (mean HbA<sub>1c</sub> and diabetes duration).

In summary, in patients with T1D at high CVD risk, low-glucose exposure was associated with preclinical atherosclerosis, while TIR and other high-glucose exposure metrics were associated with the presence of microvascular complications. Our findings support the role of hypoglycemia in the development of CVD in the T1D population and provide more evidence for the use of TIR as an essential parameter in glycemic control assessment.

## Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

## Acknowledgments

The authors thank the participants and the staff at the Diabetes unit at Hospital Clínic de Barcelona for important contributions.

### Authors' Contributions

All authors have discussed the results and commented on the final version of the manuscript. A.M, L.B., T.S-N., C.V., I.P., J.B., I.V., M.G., E. E. and I.C. acquired and processed all clinical data; A.J.A. performed the US measurements. A.J.A., M.G. and I.C. contributed to the study concept and design. A.M, M.G., I.C., V.P. and A.J.A. supervised the study and participated in data analysis and interpretation. A.M. and A.J.A. wrote the manuscript, designed the figures, and had final responsibility for the decision to submit for publication. A.J.A. is the guarantor of this work and, as such, had full access to all the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

### Declaration Of Competing Interest

A.M. has received lecturing fees from Novo-Nordisk A/S. C.V. has received lecturing fees from Novo-Nordisk A/S, Medtronic Inc., Sanofi-Aventis and MSD. M.G. has received lecturing and consulting fees from Medtronic Inc., Eli Lilly & Co., NovoNordisk A/S, Sanofi-Aventis, Astra Zeneca and MSD. I.C. reported receiving lecturing and consulting fees from Medtronic Inc., Bayer AG, GlaxoSmithKline, Eli Lilly & Co., Novo-Nordisk A/S, Sanofi-Aventis, Novartis, Astra Zeneca and MSD.

### Funding Information

A.M. is the recipient of grants from the Hospital Clínic de Barcelona (“Contracte Clínic de Recerca Emili Letang-Josep Font”) and Associació Catalana de Diabetis (ACD) (“Ajut per la realització d’un master oficial o programa de doctorat 2021”).

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2022.109938>.

## References

- [1] 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: 977–86.
- [2] Lachin JM, Orchard TJ, Nathan DM. Update on cardiovascular outcomes at 30 years of the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study. *Diabetes Care* 2014;37(1):39–43.
- [3] Vergès B. Cardiovascular disease in type 1 diabetes: A review of epidemiological data and underlying mechanisms. *Diabetes Metab* 2020;46(6):442–9.
- [4] American Diabetes Association Professional Practice Committee. 6. Glycemic Targets: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. *Diabetes Care* 2022;45 (Supplement\_1):S83–96.
- [5] Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The Relationship of Glycemic Exposure (HbA<sub>1c</sub>) to the Risk of Development and Progression of Retinopathy in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes* 1995;44(8): 968–83.

- [6] Lind M, Svensson A-M, Kosiborod M, Gudbjörnsdóttir S, Pivodic A, Wedel H, et al. Glycemic control and excess mortality in type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2014;371(21):1972–82.
- [7] Maiorino MI, Signoriello S, Maio A, Chiodini P, Bellastella G, Scappaticcio L, et al. Effects of Continuous Glucose Monitoring on Metrics of Glycemic Control in Diabetes: A Systematic Review With Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Diabetes Care* 2020;43(5):1146–56.
- [8] Charleer S, De Block C, Nobels F, Radermecker RP, Lowyck I, Mullens A, et al. Sustained Impact of Real-time Continuous Glucose Monitoring in Adults With Type 1 Diabetes on Insulin Pump Therapy: Results After the 24-Month RESCUE Study. *Diabetes Care* 2020;43(12):3016–23.
- [9] Lind M, Polonsky W, Hirsch IB, Heise T, Bolinder J, Dahlqvist S, et al. Continuous Glucose Monitoring vs Conventional Therapy for Glycemic Control in Adults With Type 1 Diabetes Treated With Multiple Daily Insulin Injections The GOLD Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2017;317(4):379.
- [10] Heinemann L, Freckmann G, Ehrmann D, Faber-Heinemann G, Guerra S, Waldenmaier D, et al. Real-time continuous glucose monitoring in adults with type 1 diabetes and impaired hypoglycaemia awareness or severe hypoglycaemia treated with multiple daily insulin injections (HypoDE): a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet* 2018;391(10128):1367–77.
- [11] Battelino T, Danne T, Bergenstal RM, Amiel SA, Beck R, Biester T, et al. Clinical targets for continuous glucose monitoring data interpretation: Recommendations from the international consensus on time in range. *Diabetes Care* 2019;42(8):1593–603.
- [12] Beck RW, Bergenstal RM, Cheng P, Kollman C, Carlson AL, Johnson ML, et al. The Relationships Between Time in Range, Hyperglycemia Metrics, and HbA1c. *J Diabetes Sci Technol* 2019;13(4):614–26.
- [13] Lu J, Ma X, Zhou J, Zhang L, Mo Y, Ying L, et al. Association of Time in Range, as Assessed by Continuous Glucose Monitoring, With Diabetic Retinopathy in Type 2 Diabetes. 2370. *Diabetes Care* 2018;41(11):2370–6.
- [14] Ranjan AG, Rosenlund SV, Hansen TW, Rossing P, Andersen S, Nørgaard K. Improved Time in Range Over 1 Year Is Associated With Reduced Albuminuria in Individuals With Sensor-Augmented Insulin Pump-Treated Type 1 Diabetes. *Diabetes Care* 2020;43(11):2882–5.
- [15] Lu J, Wang C, Shen Y, Chen L, Zhang L, Cai J, et al. Time in Range in Relation to All-Cause and Cardiovascular Mortality in Patients With Type 2 Diabetes: A Prospective Cohort Study. *Diabetes Care* 2021;44(2):549–55.
- [16] El Malahi A, Van Elsen M, Charleer S, et al. Relationship Between Time in Range, Glycemic Variability, HbA1c, and Complications in Adults With Type 1 Diabetes Mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2022;107(2):e570–81.
- [17] Giménez M, López JJ, Castell C, Conget I. Hypoglycaemia and cardiovascular disease in Type 1 Diabetes. Results from the Catalan National Public Health registry on insulin pump therapy. *Diabetes Res Clin Pract*. 2012;96(2):e23–5.
- [18] Khunti K, Davies M, Majeed A, et al. Hypoglycemia and Risk of Cardiovascular Disease and All-Cause Mortality in Insulin-Treated People With Type 1 and Type 2 Diabetes: A Cohort Study. *Diabetes Care*. 2015;38(2):316–22.
- [19] Jellinger PS, Handelsman Y, Rosenblit PD, et al. AACE 2017 Guidelines AMERICAN ASSOCIATION OF CLINICAL ENDOCRINOLOGISTS AND AMERICAN COLLEGE OF ENDOCRINOLOGY GUIDELINES FOR MANAGEMENT OF DYSLIPIDEMIA AND PREVENTION OF CARDIOVASCULAR DISEASE. *Endocr Pract*. 2017 Apr;23(Supplement 2):1–87.
- [20] NICE. Cardiovascular disease: risk assessment and reduction, including lipid modification. NICE Guidel. 2018;1(July 2014):1–44.
- [21] Mach F, Baigent C, Catapano AL, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk. Vol. 41, *European Heart Journal*. Oxford University Press; 2020. p. 111–88.
- [22] Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APHA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol. *J Am Coll Cardiol* 2019 Nov;73(24):3168–209.
- [23] Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, et al. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J*. 2021;42(34):3227–337.
- [24] American Diabetes Association Professional Practice Committee. Cardiovascular Disease, Risk Management Standards of Medical Care in Diabetes—2022. *Diabetes Care* 2022;45:S144–74.
- [25] Clarke WL, Cox DJ, Gonder-Frederick LA, et al. Reduced awareness of hypoglycemia in adults with IDDM. A prospective study of hypoglycemia frequency and associated symptoms. *Diabetes Care*. 1995;18(4):517–22.
- [26] Amor AJ, Vinagre I, Valverde M, et al. Preeclampsia Is Associated With Increased Preclinical Carotid Atherosclerosis in Women With Type 1 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020 Jan;105(1).
- [27] Mesa A, Cofán M, Esmatjes E, Perea V, Boswell L, Giménez M, et al. Biomarkers of fatty acid intake are independently associated with preclinical atherosclerosis in individuals with type 1 diabetes. *Eur J Nutr* 2021;60(8):4595–605.
- [28] Touboul P-J, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarencu P, Bornstein N, et al. Mannheim Carotid Intima-Media Thickness and Plaque Consensus (2004–2006–2011): An Update. *Cerebrovasc Dis* 2012;34(4):290–6.
- [29] Amor AJ, Ortega E, Perea V, Cofán M, Sala-Vila A, Nuñez I, et al. Relationship between total serum bilirubin levels and carotid and femoral atherosclerosis in familial dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017;37(12):2356–63.
- [30] Stahn A, Pistrosch F, Ganz X, Teige M, Koehler C, Bornstein S, et al. Relationship between hypoglycemic episodes and ventricular arrhythmias in patients with type 2 diabetes and cardiovascular diseases: silent hypoglycemia and silent arrhythmias. *Diabetes Care* 2014;37(2):516–20.
- [31] Gogitidze Joy N, Hedrington MS, Briscoe VJ, Tate DB, Ertl AC, Davis SN. Effects of Acute Hypoglycemia on Inflammatory and Pro-atherothrombotic Biomarkers in Individuals With Type 1 Diabetes and Healthy Individuals. *Diabetes Care* 2010;33(7):1529–35.
- [32] Giménez M, Gilabert R, Monteagudo J, Alonso A, Casamitjana R, Paré C, et al. Repeated episodes of hypoglycemia as a potential aggravating factor for preclinical atherosclerosis in subjects with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2011;34(1):198–203.
- [33] Bonds DE, Miller ME, Bergenstal RM, et al. The association between symptomatic, severe hypoglycaemia and mortality in type 2 diabetes: Retrospective epidemiological analysis of the ACCORD study. *BMJ*. 2010;340(7738):137.
- [34] Gruden G, Barutta F, Chaturvedi N, Schalkwijk C, Stehouwer CD, Witte DR, et al. Severe Hypoglycemia and Cardiovascular Disease Incidence in Type 1 Diabetes. The EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetes Care* 2012;35(7):1598–604.
- [35] Fährmann ER, Adkins L, Loader CJ, Han H, Rice KM, Denvir J, et al. Severe hypoglycemia and coronary artery calcification during the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications (DCCT/EDIC) study. *Diabetes Res Clin Pract* 2015;107(2):280–9.
- [36] Peña AS, Couper JJ, Harrington J, Gent R, Fairchild J, Tham E, et al. Hypoglycemia, but Not Glucose Variability, Relates to Vascular Function in Children with Type 1 Diabetes. *Diabetes Technol Ther* 2012;14(6):457–62.
- [37] Gubitosi-Klug RA, Braffett BH, White NH, Sherwin RS, Service FJ, Lachin JM, et al. Risk of severe hypoglycemia in type 1 diabetes over 30 years of follow-up in the DCCT/EDIC study. *Diabetes Care* 2017;40(8):1010–6.
- [38] Pettus JH, Zhou FL, Shepherd L, Preblich R, Hunt PR, Paranjape S, et al. Incidences of Severe Hypoglycemia and Diabetic Ketoacidosis and Prevalence of Microvascular Complications Stratified by Age and Glycemic Control in U.S. Adult Patients With Type 1 Diabetes: A Real-World Study. *Diabetes Care* 2019;42(12):2220–7.
- [39] Lu J, Ma X, Shen Y, Wu Q, Wang R, Zhang L, et al. Time in Range Is Associated with Carotid Intima-Media Thickness in Type 2 Diabetes. *Diabetes Technol Ther* 2020;22(2):72–8.
- [40] Baber U, Mehran R, Sartori S, et al. Prevalence, impact, and predictive value of detecting subclinical coronary and carotid atherosclerosis in asymptomatic adults: The bioimage study. *J Am Coll Cardiol* 2015;65(11):1065–74.

### **ARTÍCULO 3: LAS HIPOGLUCEMIAS GRAVES Y/O DESAPERCIBIDAS SE ASOCIAN CON LA ATEROSCLEROSIS PRECLÍNICA EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 1 SIN ALTO RIESGO CARDIOVASCULAR**

**OBJETIVOS:** Estudiar la relación entre la HG y la percepción de la hipoglucemia con la aterosclerosis preclínica en la DT1.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** Estudio transversal en pacientes con DT1 sin ECV, y con  $\geq 1$  de las siguientes:  $\geq 40$  años, enfermedad renal diabética o  $\geq 10$  años de duración de la diabetes con otro factor de RCV. El riesgo de ECV se estimó con Steno-Risk. Se evaluó la presencia de placa carotídea mediante un protocolo de ecografía estandarizado. Se construyeron modelos de regresión logística ajustados por factores de RCV para probar las asociaciones independientes con HG o percepción de la hipoglucemia evaluadas mediante el test de Clarke. Se evaluó también la inclusión de SH y la puntuación del test de Clarke en el Steno-Risk.

**RESULTADOS:** Se incluyeron 634 pacientes (52,4% hombres, edad  $48,3 \pm 10,8$  años, duración de la diabetes  $27,4 \pm 11,1$  años, 39,9% con placa). Se observó un aumento escalonado en la presencia de placa según Steno-Risk (13,5%, 37,7% y 68,7%, para riesgo bajo, moderado y alto, respectivamente;  $p < 0,001$ ). Los antecedentes de HG (OR 4,4 [1,3-14,6]) y la puntuación de Clarke (OR 1,7 [1,2-2,2]) se asociaron con la presencia de placa en pacientes de bajo riesgo ( $n = 192$ ). La puntuación de Clarke también se asoció con la carga de placa en sujetos de riesgo bajo a moderado ( $n=436$ ;  $\geq 2$  placas: OR 1,2 [1,0-1,5],  $p=0,031$ );  $\geq 3$  placas: OR 1,4 [1,1-2,0],  $p=0,025$ ). La inclusión de la HG y la puntuación de Clarke en el Steno-Risk mejoró significativamente la identificación de sujetos de bajo riesgo con aterosclerosis (área bajo la curva: 0,658 vs. 0,576;  $p=0,036$ ).

**CONCLUSIONES:** En pacientes con DT1 sin un alto riesgo estimado de ECV, la percepción de la hipoglucemia y el antecedente de HG se asociaron de forma independiente a la aterosclerosis preclínica y mejoraron la identificación de los pacientes que se beneficiarían de un manejo más intensivo del RCV.



## RESEARCH ARTICLE

# Severe hypoglycemia and hypoglycemia awareness are associated with preclinical atherosclerosis in patients with type 1 diabetes without an estimated high cardiovascular risk

Alex Mesa<sup>1,2</sup> | Marga Giménez<sup>1,2,3</sup> | Verónica Perea<sup>4</sup>  | Tonet Serés-Noriega<sup>1</sup>  |  
 Laura Boswell<sup>1,2,5</sup> | Jesús Blanco<sup>1,2</sup> | Camila Milad<sup>1</sup> | Adriana Pané<sup>1,2</sup> |  
 Enric Esmatjes<sup>1,2,3</sup> | Irene Vinagre<sup>1</sup> | Ignacio Conget<sup>1,2,3</sup> | Clara Viñals<sup>1</sup>  |  
 Antonio J. Amor<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Diabetes Unit, Endocrinology and Nutrition Department, ICMDM, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>2</sup>DIBAPS (Institut d'investigacions biomèdiques August Pi i Sunyer), Barcelona, Spain

<sup>3</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

<sup>4</sup>Endocrinology and Nutrition Department, Hospital Universitari Mútua Terrassa, Terrassa, Spain

<sup>5</sup>Endocrinology and Nutrition Department, Althaia University Health Network, Manresa, Spain

## Correspondence

Antonio J. Amor and Marga Giménez, Diabetes Unit, Endocrinology and Nutrition Department, Hospital Clínic de Barcelona, Carrer de Villarroel, 170, Barcelona 08036, Spain.

Email: [ajamor@clinic.cat](mailto:ajamor@clinic.cat) and [gimenez@clinic.cat](mailto:gimenez@clinic.cat)

## Funding information

Hospital Clínic de Barcelona; Associació Catalana de Diabetis

## Abstract

**Aims:** To explore the relationship between severe hypoglycemia (SH) and hypoglycemia awareness with preclinical atherosclerosis in type 1 diabetes (T1D).

**Materials and Methods:** Cross-sectional study in patients with T1D without cardiovascular disease (CVD), and with  $\geq 1$  of the following:  $\geq 40$  years, diabetic kidney disease, or  $\geq 10$  years of T1D duration with another risk factor. CVD risk was estimated with the Steno T1 Risk Engine (Steno-Risk). Carotid plaque was evaluated using standardised ultrasonography protocol. Logistic regression models adjusted for CVD risk factors were constructed to test the independent associations with SH or hypoglycemia awareness assessed by the Clarke questionnaire (Clarke). The inclusion of SH and Clarke in Steno-Risk was further evaluated.

**Results:** We included 634 patients (52.4% men, age  $48.3 \pm 10.8$  years, T1D duration  $27.4 \pm 11.1$  years, 39.9% harbouring plaque). A stepped increase in the presence of plaque according to Steno-Risk was observed (13.5%, 37.7%, and 68.7%, for low, moderate, and high risk, respectively;  $p < 0.001$ ). SH history (OR 4.4 [1.3–14.6]) and Clarke score (OR 1.7 [1.2–2.2]) were associated with plaque in low-risk patients ( $n = 192$ ). Clarke score was also associated with plaque burden in low-moderate-risk participants ( $n = 436$ ;  $\geq 2$  plaques: OR 1.2 [1.0–1.5],  $p = 0.031$ ;  $\geq 3$  plaques: OR 1.4 [1.1–2.0],  $p = 0.025$ ). The inclusion of SH and Clarke scores in Steno-Risk significantly improved the identification of low-risk individuals with atherosclerosis (area under the curve: 0.658 vs. 0.576;  $p = 0.036$ ).

**Conclusions:** In patients with T1D without an estimated high CVD risk, SH and hypoglycemia awareness assessment score were independently associated with preclinical atherosclerosis and improved identification of patients who would benefit from an intensive approach.

## KEYWORDS

cardiovascular risk, chronic complications, impaired awareness of hypoglycemia, severe hypoglycemia, type 1 diabetes

## 1 | INTRODUCTION

Mortality in people living with type 1 diabetes (T1D) has declined in recent years, but the risk of death remains two to five times higher than in people without diabetes.<sup>1</sup> Although tight glycaemic control reduces the risk of cardiovascular disease (CVD), the leading cause of death in this population, a significant excess cardiovascular mortality is still observed in patients achieving glycaemic targets.<sup>2</sup> Thus, the use of specific cardiovascular risk scales, such as the Steno T1 Risk Engine (Steno-Risk),<sup>3</sup> is essential to stratify risk and tailor management in this population.

Steno-Risk, which takes into account main CVD risk factors and glycaemic burden, was independently associated with preclinical atherosclerosis in a cohort of patients with T1D ( $n = 501$ ) from our centre.<sup>4</sup> Nevertheless, nearly one fifth of patients in the low and two fifths in the moderate CVD risk category had carotid plaques, respectively. Therefore, there is a need to analyse further non-glycaemic factors (e.g. inflammation or insulin resistance) or other metrics of glycaemic control (e.g. hypoglycemia exposure or glycaemic variability) that may be related to a higher cardiovascular risk in this population.<sup>5</sup> This would be particularly relevant for individuals under the age of 40, as the initiation of statins for primary prevention of CVD is recommended to be individualised in these patients<sup>6,7</sup> and is typically delayed.<sup>8</sup>

Acute and potentially harmful responses to controlled hypoglycemia have been extensively studied and inflammation and endothelial dysfunction have been consistently observed in this context.<sup>9–11</sup> However, evidence regarding the effect of severe hypoglycemia (SH) or chronic moderate hypoglycemia exposure on CVD is limited and conflicting,<sup>12</sup> particularly in young populations with T1D.<sup>13,14</sup> In this context, we recently reported that hypoglycemia exposure measured using continuous glucose monitoring was independently associated with preclinical atherosclerosis in subjects with T1D.<sup>15</sup>

The present study aimed to explore the relationship between further chronic hypoglycemia-associated variables, such as SH and hypoglycemia awareness, and the presence of preclinical atherosclerosis in a cohort of patients with T1D. Additionally, the study assessed whether including SH and/or hypoglycemia awareness in the Steno-Risk equation could improve the identification of individuals with preclinical atherosclerosis.

## 2 | MATERIALS AND METHODS

### 2.1 | Subjects

We conducted a cross-sectional study in individuals with T1D followed at the Diabetes Unit of Hospital Clínic de Barcelona (Spain), a tertiary university hospital that actively follows more than 2500 patients with T1D. The criteria for T1D included past or present positivity for T1D-related autoantibodies (against glutamic acid decarboxylase 65, tyrosine-phosphatase-like protein IA2 or insulin), the occurrence of diabetic ketosis or ketoacidosis following the onset

of classic hyperglycemia symptoms, and/or the need for continuous insulin treatment. Patients with clinical suspicion of latent autoimmune diabetes in adults, monogenic diabetes, or prior pancreatic diseases (e.g., pancreatitis, surgery) were excluded.

We included consecutive participants with no previous history of CVD (coronary artery disease, ischaemic stroke, peripheral artery disease, or heart failure), but meeting at least one of the subsequent risk criteria<sup>6,16–18</sup>: (a) age  $\geq 40$  years; (b) presence of any stage of diabetic kidney disease (DKD); or (c)  $\geq 10$  years of duration of diabetes and at least one additional CVD risk factor: family history of premature CVD (defined as any CVD occurring before 55 years of age in men and before 65 years of age in women<sup>18</sup>), active smoking habit, hypertension, low HDL-cholesterol levels ( $< 40$  mg/dL in men,  $< 45$  mg/dL in women), high triglyceride levels ( $> 150$  mg/dL), being already on statins, a former episode of preeclampsia/eclampsia, the presence of diabetic retinopathy, impaired awareness of hypoglycemia (IAH) or a previous episode of SH in the last 2 years.

The study protocol was conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki. Appropriate institutional review board approval was obtained to perform this analysis, and all patients provided informed consent.

### 2.2 | Clinical and laboratory measures

We obtained both demographic and clinical data, including family history of premature CVD in first-degree relatives, smoking habit, the presence of hypertension, as well as the use of certain medications (antihypertensive, lipid-lowering, antiplatelet, or non-insulin antidiabetic agents). Moreover, diabetes-specific clinical variables were also recorded: diabetes duration, current insulin therapy (continuous subcutaneous insulin infusion or multiple-dose insulin regimen), the presence of microvascular complications (DKD and/or retinopathy), and history of SH, defined as an episode requiring the assistance of another person for recovery in the previous 2 years.<sup>10</sup> Hypoglycemia awareness was also assessed by the validated Spanish version of the Clarke questionnaire (Clarke) (score  $< 3$ : normal; score = 3: uncertain; score  $> 3$ : impaired awareness).<sup>19</sup>

Anthropometric measures (height, weight, and waist circumference) were also obtained by standard methods. The body mass index was calculated as weight in kilograms divided by square height in metres. Blood pressure was registered using a blood pressure monitor after a few minutes of rest.

Laboratory parameters were measured in fasting blood and first-morning urine spot samples. Serum creatinine, glucose, lipid profile (including total cholesterol, triglycerides, and HDL-cholesterol), and urinary albumin-to-creatinine ratio were obtained using standardised assays. LDL-cholesterol was determined by the Friedewald formula. The glomerular filtration rate was estimated by the Chronic Kidney Disease-Epidemiology Collaboration equation.<sup>20</sup> HbA1c was measured centrally with the same method (high-performance liquid chromatography and expressed in National Glycohemoglobin Standardisation Programme/Diabetes Control and Complications

Trial units). The values of the last 5 years (median determinations every year: 3) obtained from medical records were used to calculate the mean HbA1c.

DKD was defined as an albumin-to-creatinine ratio  $\geq 30$  mg/g and/or an estimated glomerular filtration rate (eGFR)  $< 60$  mL/min/ $1.73$  m<sup>2</sup>. The use of ACEi or angiotensin receptor blocker (ARB), with no history of hypertension or CVD, was also considered as DKD. Non-mydratic retinopathy was used for diagnosis of diabetic retinopathy, which was always confirmed by an ophthalmologist. Hypertension was defined as consecutive measurements of clinical systolic blood pressure  $\geq 140$  mmHg and diastolic blood pressure  $\geq 90$  mmHg, or as treatment with antihypertensive drugs (except in patients receiving ACEi/ARB for DKD).

Cardiovascular risk was assessed with Steno-Risk,<sup>3</sup> which estimates the 10-year risk of fatal or nonfatal CVD (ischaemic heart disease, ischaemic stroke, heart failure, and peripheral artery disease) based on 10 variables: age, sex, diabetes duration, HbA1c, systolic blood pressure, LDL-cholesterol, albuminuria, eGFR, smoking habit, and regular exercise ( $\geq 3.5$  h/week). Individuals were classified as low ( $< 10\%$ ), moderate (10%–19.9%), or high ( $\geq 20\%$ ) CVD risk, accordingly.<sup>3</sup>

Adherence to an energy-restricted Mediterranean diet was also assessed in a subgroup of patients through the validated 17-item questionnaire used in the intervention group of the ongoing PREDIMED-Plus clinical trial.<sup>21,22</sup>

### 2.3 | Carotid B-mode ultrasound imaging

Bilateral carotid artery ultrasound images were acquired using high-resolution B-mode ultrasound (*Acuson X700* [Siemens Healthineers] and *Aplio a450* [Canon]) with the same electric linear array 5–10 MHz transducer. Predefined and standardised imaging protocols to evaluate carotid intima-media thickness (IMT) and the presence of plaques were carried out as described previously.<sup>23,24</sup> Carotid images visualised using B-mode and colour Doppler in both longitudinal and transverse planes to evaluate the presence of circumferential asymmetry. Carotid plaques were defined as focal echostructures encroaching into the arterial lumen by at least 50% of the surrounding IMT value or when IMT was at least 1.5 mm as measured from the media adventitia interface to the intima-lumen surface.<sup>25</sup> Two experienced endocrinologists performed all the procedures, and IMT and plaque ascertainment and measurement were performed by the same researcher (A.J.A.) using semi-automatic software. The mean and mean maximum IMT of all carotid segments (common carotid, bulb, and internal carotid) were recorded in addition to the maximum height of carotid plaques. If carotid plaques were present, the maximum IMT was equal to the highest carotid plaque height. Peak systolic and end-diastolic velocities were used to evaluate carotid stenosis and the planimetric area was measured at a transversal view when significant plaques (IMT  $> 2.5$  mm) were found.

### 2.4 | Statistical analyses

Data are presented as mean  $\pm$  standard deviation, median and 25th and 75th percentiles or number (percentage). For continuous variables, a Kolmogorov-Smirnov test was used to determine normality. Comparisons of variables according to the presence of carotid plaques were performed using an unpaired Student's *t*-test for normally distributed continuous variables or the Mann-Whitney *U* test for non-normally distributed variables, as appropriate. Comparisons of variables according to Steno-Risk categories ( $< 10\%$  low, 10%–20% intermediate,  $\geq 20\%$  high) were performed using a one-way analysis of variance or the Kruskal-Wallis *H* test for non-normally distributed variables, as appropriate. Proportions were compared using a chi-square test.

To search for independent relationships between hypoglycemia awareness (independent variable: Clarke score) and preclinical carotid atherosclerosis (dependent variables: presence of carotid plaque [main outcome] and plaque burden [ $\geq 2$  and  $\geq 3$  plaque; secondary outcomes]); we constructed logistic binary regression models. The first model included age, sex, and Clarke score as covariates. The second model included the same variables as above, in addition to classic CVD risk factors (systolic blood pressure, active smoking habit, LDL-cholesterol, and statin exposure [statin score; see below]). A third model including diabetes-related variables (diabetes duration, mean HbA1c in the last 5 years [as a proxy of glycaemic exposure<sup>26</sup>] and the presence of microvascular complications) as well as the covariates added in the second model was also constructed for assessing the independent relationship between Clarke score and preclinical carotid atherosclerosis. The same models were also applied to assess the independent relationships of SH (history of SH in the last 2 years) and concomitant IAH and history of SH (IAH + SH) with preclinical atherosclerosis. Since significant interactions were observed between the Steno-Risk category and the independent variables (SH\*Steno-Risk, Clarke\*Steno-Risk, and IAH + SH\*Steno-Risk; interaction  $p < 0.05$  for all), the models were performed according to the CVD risk category. We also performed these analyses in a subgroup of patients younger than 40 years old. Considering that insulin resistance has also been associated with CVD in patients with T1D,<sup>27,28</sup> the relationship of SH and hypoglycemia awareness with the presence of preclinical atherosclerosis was further adjusted for the HDL/triglycerides ratio and the estimated glucose disposal rate (eGDR).<sup>29</sup>

Furthermore, as an exploratory analysis, we evaluated whether the inclusion of SH and/or Clarke score in the Steno-Risk equation improved the identification of low-risk individuals with carotid plaque using receiver operating characteristic curves. We tested for equality of the AUCs for Steno-risk alone and for Steno-Risk plus Clarke score and/or history of SH using DeLong's method. Moreover, we further performed this analysis in patients with  $< 40$  years of age, irrespective of the risk category.

Finally, as part of an exploratory analysis, we examined the independent relationship between hypoglycemia-associated variables

derived from continuous glucose monitoring (specifically, time below range <54 mg/dL (TBR < 54), time below the range <70 mg/dL (TBR < 70), and coefficient of variation), and the presence of pre-clinical atherosclerosis when glucometric data were available. The same regression models were applied to these exploratory analyses.

Since many subjects had been treated with lipid-lowering drugs, which could induce regression of IMT and plaque, we adjusted for statin treatment when evaluating associations with atherosclerosis. To this end, for each subject we calculated a statin score, estimation of lifetime exposure to cholesterol-lowering treatment, as the product of the duration of treatment in years by the average dose received of statin drugs standardised to simvastatin in mg/day.<sup>30</sup>

IBM SPSS Statistics version 23.0 (SPSS Inc.) and *jamovi* version 2.3 (The jamovi project; Sydney, Australia) were used to perform the statistical analysis. All tests were two-tailed and significance was considered if  $p$ -value <0.05.

## 3 | RESULTS

### 3.1 | Subjects' characteristics

A total of 634 patients were included (52.4% men, mean age  $48.3 \pm 10.8$  years, 5-year mean HbA1c 7.5% [7.0–8.0] (58.5 [53.0–63.9] mmol/mol) and  $27.4 \pm 11.1$  years of diabetes duration). 14.5% of the individuals had experienced at least 1 episode of SH in the last 2 years and 14.7% had IAH assessed by Clarke (score >3). With the use of the Steno-Risk strategy, we classified 30.3% ( $n = 192$ ) of the subjects as low CVD risk, while 38.5% ( $n = 244$ ) and 31.2% ( $n = 198$ ) as moderate and high risk, respectively. Table 1 shows the clinical characteristics, laboratory data, and pharmacological treatment of the study population according to the Steno-Risk category. Carotid plaque was present in 39.9% ( $n = 253$ ) of the participants and a stepped increase in the presence of plaque according to Steno-Risk category was observed (13.5%, 37.7%, and 68.7%, for low, moderate, and high risk, respectively;  $p < 0.001$ ). Predictably, a stepped increase in the presence and degree of main CVD risk factors (more frequently men, older, and higher prevalence of smoking habit and hypertension) and T1D-related factors (higher mean HbA1c, diabetes duration, and prevalence of microvascular complications) was also observed. No differences regarding the prevalence of IAH or history of SH events were detected according to the Steno-Risk category. However, patients with IAH were more frequently women and users of statins and had a significantly lower HbA1c and prevalence of microvascular complications (Table S1), while patients with a history of SH were more frequently women and had longer diabetes duration (Table S2). No other significant differences in main CVD risk factors and glycaemic burden were observed according to the presence of both hypoglycemia-related variables.

As expected, subjects with carotid plaques were older, more frequently men and smokers, and had a higher prevalence of

hypertension and microvascular complications, as well as a longer diabetes duration (Table S3). Moreover, the mean HbA1c and triglyceride levels were also higher in patients with plaque. Finally, these patients were more frequent users of cardioprotective drugs (namely, statins, antiplatelet drugs and ACEi or ARB;  $p < 0.05$  for all comparisons).

### 3.2 | Relationships between hypoglycemia-related variables and carotid atherosclerosis according to estimated CVD risk

Multivariate regression models were constructed to evaluate the independent contribution of hypoglycemia awareness (Clarke score) in preclinical atherosclerosis according to CVD risk category (Clarke\*Steno-Risk interaction  $p = 0.023$ ; Tables S4–S11). Figure 1 summarises the odds ratio (OR) and 95% confidence interval of the cross-sectional associations of the presence of  $\geq 1$  and  $\geq 2$  carotid plaques with Clarke score, classic CVD risk factors, and diabetes-specific clinical variables. After adjusting for potential confounders, the Clarke score was directly associated with the presence of plaque [OR 1.66 (1.24–2.24),  $p = 0.001$ ; per 1-point increase; Panel A] and  $\geq 2$  plaques [OR 2.19 (1.14–4.21),  $p = 0.019$ ; per 1-point increase; Panel B] in low-risk individuals. The relationship of SH and hypoglycemia awareness with the presence of preclinical atherosclerosis remained unchanged after adjusting for insulin resistance (Tables S12–S15). Moreover, Clarke score was also associated with plaque burden ( $\geq 2$  plaques: OR 1.22 [1.02–1.47],  $p = 0.031$ ;  $\geq 3$  plaques: OR 1.43 [1.05–1.96],  $p = 0.025$ ) in individuals with low or intermediate risk ( $n = 436$ ; Tables S16–S18 and Figure S1).

Logistic binary regression models were also constructed to search for independent relationships between SH (history of SH in the last 2 years) and the presence of carotid plaque, also according to the steno-risk category (SH\*Steno-Risk interaction  $p = 0.009$ ; Tables S19–S21). After adjusting for potential confounders, a history of SH was directly associated with the presence of plaque in low-risk individuals [OR 4.40 (1.33–14.67),  $p = 0.001$ ] (Figure S2, panel A). We further evaluated whether concomitant IAH and a history of SH (IAH + SH) was also associated with preclinical atherosclerosis (Tables S22–S24). After adjusting for potential confounders, a significant association was also found between IAH + SH and the presence of preclinical atherosclerosis [OR 5.48 (1.24–24.24),  $p = 0.025$ ; Figure S2, panel B].

Finally, in a subgroup of patients with continuous glucose monitoring data ( $n = 257$ , Table S25), the independent relationship between hypoglycemia exposure (TBR < 54, TBR < 70 and coefficient of variation) and the presence of carotid plaque was further examined. After adjusting for potential confounders, TBR < 54 [OR 1.38 (1.06–1.82),  $p = 0.019$ ] and coefficient of variation [OR 1.08 (1.01–1.16),  $p = 0.033$ ] were also directly associated with the presence of plaque in low or intermediate risk individuals ( $n = 189$ ).

**TABLE 1** Characteristics of the study participants according to the Steno T1 Risk engine categories.

	All participants (n = 634)	Low risk (n = 192)	Moderate risk (n = 244)	High risk (n = 198)	p-value
<b>Clinical characteristics</b>					
Sex (male)	335 (52.4)	110 (42.7)	137 (56.1)	113 (57.1)	<b>0.006</b>
Age (years)	48.3 ± 10.8	37.2 ± 5.8	48.4 ± 5.9	59.0 ± 7.8	<b>&lt;0.001</b>
T1D duration (years)	27.4 ± 11.1	21.2 ± 7.4	27.4 ± 9.9	33.5 ± 12.1	<b>&lt;0.001</b>
Premature CVD in first-degree relatives <sup>a</sup> (%)	71 (11.2)	17 (8.9)	34 (13.9)	20 (10.1)	0.208
Current smokers (%)	177 (27.9)	44 (22.9)	66 (27.0)	67 (33.8)	0.052
Hypertension (%)	156 (24.6)	14 (7.3)	41 (16.8)	101 (51.0)	<b>&lt;0.001</b>
SBP (mmHg)	128 ± 15	119 ± 13	126 ± 13	137 ± 15	<b>&lt;0.001</b>
DBP (mmHg)	82 ± 8	81 ± 8	82 ± 9	82 ± 8	0.393
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26.1 ± 4.2	25.8 ± 4.1	26.0 ± 3.9	26.7 ± 4.5	0.071
<b>Waist circumference (cm)</b>					
Female (cm)	86.4 ± 12.1	84.4 ± 11.7	85.5 ± 11.2	90.1 ± 12.8	<b>0.003</b>
Male (cm)	96.2 ± 10.7	94.1 ± 9.7	95.6 ± 11.1	98.5 ± 10.6	<b>0.016</b>
<b>Microvascular complications (%)</b>					
Diabetic kidney disease (%)	60 (9.5)	9 (4.7)	12 (4.9)	39 (19.7)	<b>&lt;0.001</b>
Diabetic retinopathy (%)	238 (37.5)	61 (31.8)	76 (31.1)	101 (51.0)	<b>&lt;0.001</b>
<b>Carotid plaque presence (%)</b>					
≥1 plaque	253 (39.9)	26 (13.5)	92 (37.7)	136 (68.7)	<b>&lt;0.001</b>
≥2 plaques	152 (24.0)	5 (2.6)	48 (19.6)	99 (50.0)	<b>&lt;0.001</b>
≥3 plaques	85 (13.4)	1 (0.5)	15 (6.1)	69 (34.8)	<b>&lt;0.001</b>
CSII therapy (%)	201 (31.5)	52 (27.1)	85 (34.8)	64 (32.3)	0.219
Severe hypoglycemia events (2 previous years) (%)	92 (14.5)	24 (12.5)	34 (13.9)	34 (17.2)	0.402
<b>Clarke questionnaire score</b>					
Result <3	491 (77.4)	159 (82.8)	182 (74.6)	150 (75.8)	0.140
Result 3	50 (7.9)	8 (4.2)	22 (9.0)	20 (10.1)	
Result >3	93 (14.7)	25 (13.0)	40 (16.4)	28 (14.1)	
<b>Laboratory characteristics</b>					
Fasting plasma glucose (mg/dL)	145 (108–195)	134 (98–187)	150 (107–203)	147 (113–195)	0.076
HbA1c (5-year mean) (%)	7.5 (7.0–8.0)	7.3 (6.8–7.9)	7.5 (6.9–7.9)	7.8 (7.2–8.4)	<b>&lt;0.001</b>
Serum creatinine (mg/dL)	0.87 ± 0.17	0.83 ± 0.15	0.85 ± 0.14	0.92 ± 0.21	<b>&lt;0.001</b>
eGFR(CKD-EPI; ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	93 ± 15	101 ± 14	95 ± 11.5	82 ± 15	<b>&lt;0.001</b>
Total cholesterol (mg/dL)	189 ± 30	188 ± 29	190 ± 30	189 ± 33	0.659
HDL-cholesterol (mg/dL)	61 ± 16	59 ± 15	61 ± 16	62 ± 16	0.244
LDL-cholesterol (mg/dL)	111 ± 26	112 ± 25	114 ± 25	108 ± 27	0.070
Triglycerides (mg/dL)	75 (60–101)	72 (58–99)	71 (57–92)	82 (66–109)	<b>&lt;0.001</b>
Non-HDL cholesterol (mg/dL)	128 ± 28	128 ± 28	130 ± 26	127 ± 30	0.516
HDL/triglycerides ratio	0.86 ± 0.44	0.85 ± 0.41	0.90 ± 0.46	0.81 ± 0.44	0.092
eGDR <sup>b</sup>	8.4 ± 2.1	9.5 ± 1.6	8.8 ± 1.8	7.0 ± 2.0	<b>&lt;0.001</b>

(Continues)

TABLE 1 (Continued)

	All participants (n = 634)	Low risk (n = 192)	Moderate risk (n = 244)	High risk (n = 198)	p-value
Pharmacological treatment					
Statins (%)	242 (38.2)	33 (17.2)	97 (39.8)	112 (56.6)	<0.001
ACEi/ARB (%)	163 (25.7)	18 (9.4)	44 (18.0)	101 (51.0)	<0.001
Antiplatelet drugs (%)	54 (8.5)	1 (0.5)	11 (4.5)	42 (21.2)	<0.001
Statin score	106 ± 225	33 ± 112	95 ± 217	190 ± 283	<0.001

Note: Data are shown as n (percentage), mean ± standard deviation or median (Q1-Q3). p values for comparisons between Steno T1 Risk Engine categories are reported. Bold represents statistically significant values ( $p < 0.005$ ).

Abbreviations: ACEi, angiotensin-converting enzyme inhibitor; ARB, angiotensin receptor blocker; BMI, Body Mass Index; CSII, continuous subcutaneous insulin infusion; CVD, cardiovascular disease; DBP, diastolic blood pressure; eGDR, estimated glucose disposal rate; eGFR, estimated glomerular filtration rate; HDL, high density lipoprotein; LDL, low density lipoprotein; SBP, systolic blood pressure; T1D, type 1 diabetes.

<sup>a</sup>Defined as <55 years in men and <65 years in women.

<sup>b</sup>Data available in 611 patients.

### 3.3 | Relationships between hypoglycemia-related variables and carotid atherosclerosis in individuals under 40 years old

Characteristics of participants younger than 40 years old ( $n = 128$ ) are presented in Table S26. Compared with older individuals, the cardiovascular risk profile was better overall (less diabetes duration, lower prevalence of hypertension, better renal function and less use of cardioprotective drugs;  $p < 0.05$  for all comparisons). Consequently, the estimated risk was lower (95.3% vs. 13.8% classified as low-risk) due to the presence of atherosclerosis (13.2% vs. 46.8% with at least 1 plaque;  $p < 0.001$  for both comparisons). No differences in hypoglycemia-related variables were found (i.e., Clarke or episodes of SH). Multivariate regression models were also performed in the subgroup of individuals under 40 years of age, regardless of Steno-Risk category (Tables S27–S28). Apart from age, Clarke score (OR 1.91 (1.30–2.81),  $p = 0.001$ ) and SH history (OR 5.560 (1.27–24.26),  $p = 0.022$ ) were the only factors significantly associated with preclinical atherosclerosis, even after adjusting for major CVD risk factors (Figure 2).

### 3.4 | Improvement of the identification of preclinical atherosclerosis with the inclusion of hypoglycemia-related variables to Steno-Risk

We evaluated the performance of Steno-Risk adjusted by the history of SH and/or Clarke score in identifying patients with preclinical atherosclerosis compared with Steno-Risk alone in subjects at low CVD risk. Figure 3A shows that the adjusted version of Steno-risk, incorporating both SH and Clarke score, significantly improved the identification of individuals with carotid plaque [area under the curve (AUC): 0.658 (0.567–0.749) versus 0.576 (0.473–0.679);  $p = 0.036$ ]. Regarding the identification of individuals with  $\geq 2$  plaques, a high performance was observed with the inclusion of Clarke score [AUC 0.857 (0.763–0.951) versus 0.682 (0.538–0.826)],

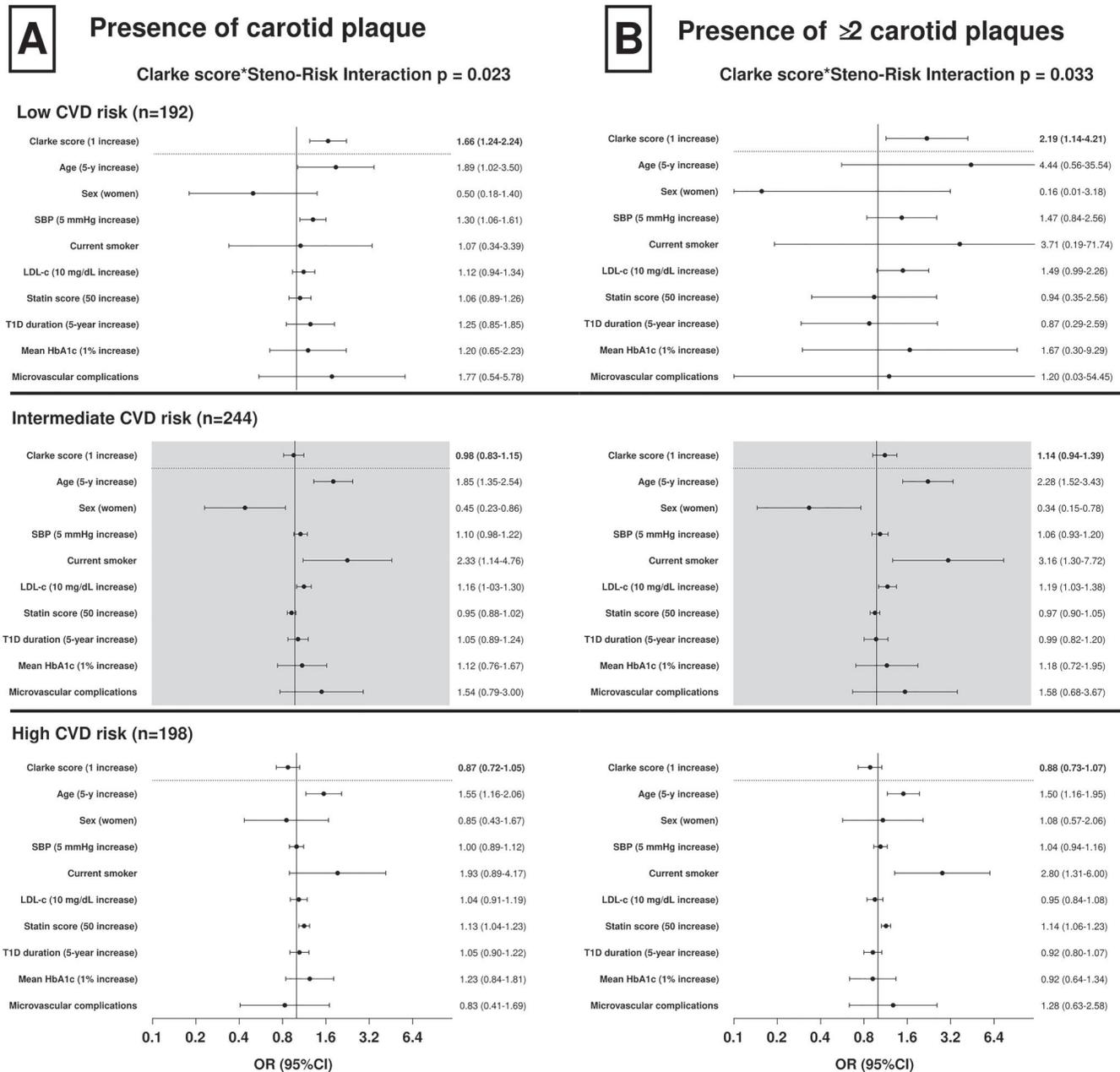
but only a trend towards improved identification was obtained ( $p = 0.094$ ; Figure 3B).

We further assessed the performance of adjusted Steno-Risk in preclinical atherosclerosis identification in all the subjects that were less than 40 years old, regardless of estimated CVD risk. Despite the incorporation of Clarke score and SH led to a high AUC, differences with Steno-Risk alone did not reach statistical significance [AUC 0.769 (0.666–0.872) versus 0.624 (0.500–0.749);  $p = 0.092$ ] (Figure 3C). Conversely, the identification of individuals with greater plaque burden ( $\geq 2$  plaques) significantly improved with the inclusion of SH and Clarke score [AUC 0.933 (0.882–0.985) versus 0.787 (0.715–0.858),  $p = 0.008$ ] (Figure 3D).

## 4 | DISCUSSION

In our sample of participants with T1D, SH and hypoglycemia awareness assessment score were independently associated with the presence and number of carotid plaques in those without an estimated high CVD risk. Additionally, both hypoglycemia-related variables were the only modifiable risk factors significantly associated with plaque presence in young individuals (<40 years). Moreover, the inclusion of SH and hypoglycemia awareness score in the Steno-Risk equation improved the identification of individuals with preclinical atherosclerosis. To our knowledge, this is the first study to show that CVD risk stratification might be improved by the addition of chronic hypoglycemia-associated variables to risk scales in patients with T1D.

Experimental studies have demonstrated the presence of inflammatory markers and endothelial dysfunction in both healthy individuals and individuals with T1D during acute hypoglycemia,<sup>9,10</sup> followed by a sustained pro-inflammatory response for at least 1 week.<sup>11</sup> Several studies have also associated SH with CVD and mortality, especially in patients with type 2 diabetes and high cardiovascular risk.<sup>31</sup> However, the evidence regarding young individuals with T1D is unclear. Although retrospective studies in this



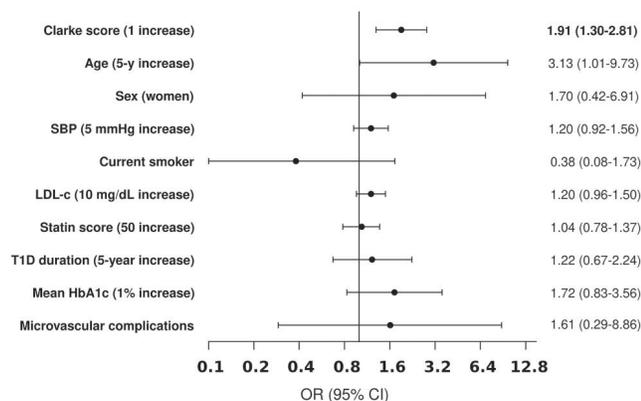
**FIGURE 1** Variables independently associated with the presence of preclinical atherosclerosis (logistic regression analysis) according to the Steno T1 Risk Engine (Steno-Risk) (<10% low, 10%–20% intermediate, ≥20% high). A logistic regression model (odds ratio and 95% confidence interval) is shown for the presence of ≥1 (A) and ≥2 (B) carotid plaques. The model included the following covariates: Clarke questionnaire score, classic CVD risk factors (age, sex, systolic blood pressure, current smoking habit, LDL-cholesterol and statin exposure), and diabetes-related variables (diabetes duration, mean HbA1c in the last 5 years and presence of microvascular complications). CVD, cardiovascular disease.

population have associated hypoglycemia with an increased risk of CVD events,<sup>32–34</sup> no association was found between baseline SH events and incidence of CVD in the EURODIAB Prospective Complications Study.<sup>13</sup> A plausible explanation for such inconsistency could be that the latter analysed hard events in a young cohort with a relatively short follow-up period (7 years). In this line, in a recent analysis of the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) study, with approximately 30 years of follow-up, SH was a significant

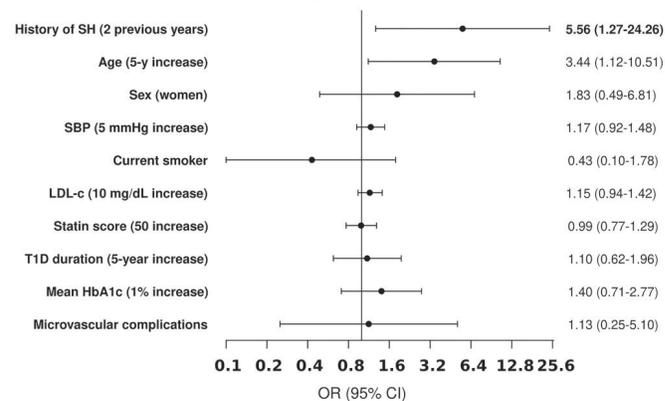
risk factor for ischaemic heart disease.<sup>14</sup> Interestingly, older age and high CVD risk were not mandatory for such association.

In this context, we recently reported that time in hypoglycemia (<54 mg/dL) assessed by continuous glucose monitoring (CGM) and IAH were independently associated with carotid plaque presence in subjects with T1D(15). In the present study, we not only observed that SH events, the Clarke score and hypoglycemia-associated CGM data were also independently associated with preclinical atherosclerosis in a larger cohort with low or moderate CVD risk, but we

### A. Clarke Questionnaire score



### B. History of severe hypoglycemia



**FIGURE 2** Variables independently associated with the presence of carotid plaque (logistic regression analysis) in subjects under 40 years of age. Logistic regression models (odds ratio and 95% confidence interval) are shown for the presence of carotid plaques. Two different models are depicted for the relationship between Clarke questionnaire score (A) and history of SH (B) with presence of preclinical atherosclerosis, adjusting for classic CVD risk factors (age, sex, systolic blood pressure, current smoking habit, LDL-cholesterol and statin exposure) and diabetes-related variables (diabetes duration, mean HbA1c in the last 5 years and presence of microvascular complications). CVD, cardiovascular disease; SH, severe hypoglycemia.

also found that the inclusion of both hypoglycemia-related variables to the Steno-risk equation improved the identification of individuals with carotid plaques. Considering the increased risk of hypoglycemia related to a tight glycaemic control,<sup>26</sup> these findings may shed light on why patients with T1D achieving glycaemic targets still experience higher rates of CVD mortality.<sup>2</sup> Additionally, it highlights the importance of hypoglycemia avoidance in T1D and emphasises the need to implement hypoglycemia-preventive educational programs and technologies in subjects with recurrent hypoglycemia. A more aggressive consideration of CVD preventive measures should also be applied in this subset of patients, especially when major CVD risk factors are not present or are well controlled. No association was found between hypoglycemia and preclinical atherosclerosis in high-risk individuals, probably due to the predominant effect of traditional risk factors.

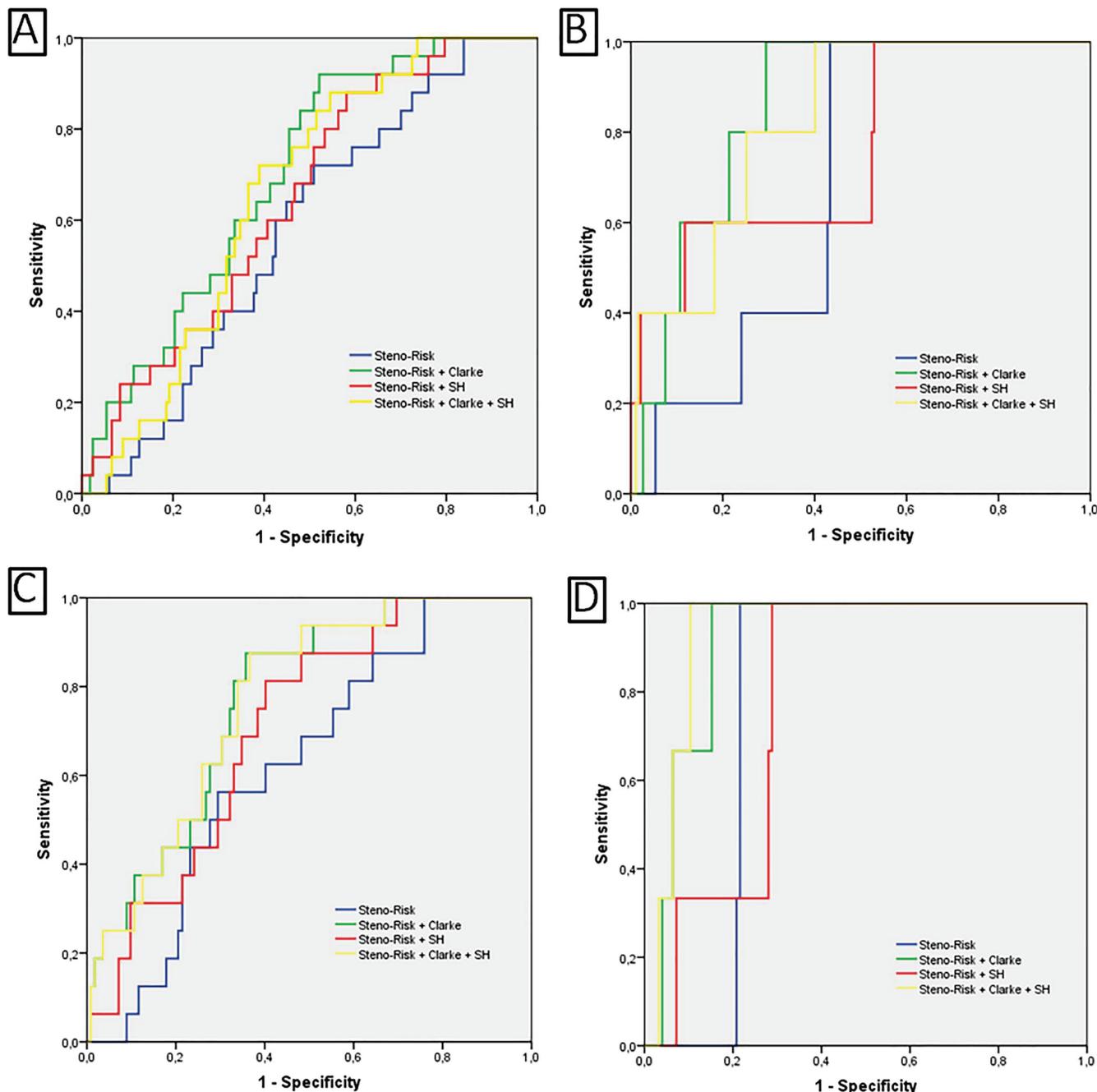
The main guidelines on CVD management indicate that patients with T1D above 40 years of age may be treated similarly to those with T2D<sup>7,35</sup> and the use of statins is recommended in such cases.<sup>6</sup> Conversely, in subjects younger than 40 years, the initiation of lipid-lowering therapy for primary prevention of CVD needs to be individualised and may be reasonable in the presence of additional atherosclerotic CVD risk factors.<sup>6,7</sup> Nevertheless, Steno-Risk's performance in identifying preclinical atherosclerosis was poor in the subgroup of patients below 40 years from our cohort. Interestingly, hypoglycemia-related disorders were the only modifiable risk factors significantly associated with carotid plaque presence in this subset of patients. Moreover, including the Clarke score and SH to the Steno-Risk equation resulted in a significant improvement in identifying young patients with higher plaque burden ( $\geq 2$  plaques), and a trend towards better identification of preclinical atherosclerosis. Therefore, hypoglycemia may have a considerable impact on young individuals at the early stages of atherosclerosis development. However, this association may be obscured by the scarcity of hard CVD events in

young patients, the close relationship between tight glycaemic control and hypoglycemia exposure, and the predominant contribution of traditional CVD risk factors in the CVD risk continuum.

Some limitations should be acknowledged. First, the association was based on a cross-sectional analysis, and despite the use of multivariate regression models, causality cannot be established. Additionally, despite being an independent predictor of CVD events,<sup>36</sup> the assessment of carotid plaques by ultrasound is a surrogate variable, and hard clinical CVD events should be assessed in further long-term prospective studies. Moreover, the inclusion of a single sample of patients from a tertiary centre may not be representative of other geographic areas or medical centres, precluding the generalisation to wider populations. Furthermore, hypoglycemia and glycaemic variability are strongly correlated and, due to the study design, their independent effects cannot be established and need to be elucidated in future studies. Finally, the use of patient-reported data (SH events and Clark questionnaire) is also a limitation of our study. Nevertheless, raising awareness of this potential and under-reported<sup>37,38</sup> cardiovascular risk factor could improve chronic hypoglycemia exposure detection and future inclusion of such variables in large cohort analyses.<sup>39</sup>

This study also has several strengths. One of the main strengths is that, to our knowledge, this is the first study to show that hypoglycemia-related disorders might improve CVD risk stratification in subjects with T1D. Furthermore, the robustness of our results lies in the quality of the carefully collected data and the addition of major confounders in multivariate analyses, including main CVD risk factors and glycaemic burden. Finally, the large sample size and the use of standardised procedures also reduce the risk of bias in our results.

In summary, in young patients with T1D or those without an estimated high CVD risk, both SH and hypoglycemia awareness assessment score were independently associated with the presence



**FIGURE 3** Receiver operating characteristic (ROC) curves of Steno-Risk and Steno-Risk adjusted for Clarke score, SH or both variables for the prediction of preclinical atherosclerosis ( $\geq 1$  and  $\geq 2$  plaque) in low-risk patients and in subjects under 40 years old: (A) ( $\geq 1$  carotid plaque; low-risk patients): Steno-Risk AUC: 0.576 (0.473–0.679) versus Modified Steno-Risk adjusted for Clarke score AUC: 0.697 (0.603–0.790),  $p = 0.068$ ; versus Modified Steno-Risk considering the presence of SH AUC: 0.647 (0.546–0.748),  $p = 0.257$ ; versus Modified Steno-Risk considering Clarke score and the presence of SH AUC: 0.658 (0.567–0.749),  $p = 0.036$ . (B) ( $\geq 2$  carotid plaque; low-risk patients): Steno-Risk AUC: 0.682 (0.538–0.826) versus Modified Steno-Risk adjusted for Clarke score AUC: 0.857 (0.763–0.951),  $p = 0.094$ ; versus Modified Steno-Risk considering the presence of SH AUC: 0.761 (0.549–0.974),  $p = 0.456$ ; versus Modified Steno-Risk considering Clarke score and the presence of SH AUC: 0.828 (0.693–0.963),  $p = 0.129$ . (C) ( $\geq 1$  carotid plaque; subjects under 40 years old): Steno-Risk AUC: 0.624 (0.500–0.749) versus Modified Steno-Risk adjusted for Clarke score AUC: 0.768 (0.664–0.872),  $p = 0.094$ ; versus Modified Steno-Risk considering the presence of SH AUC: 0.706 (0.593–0.819),  $p = 0.301$ ; versus Modified Steno-Risk considering Clarke score and the presence of SH AUC: 0.769 (0.666–0.872),  $p = 0.092$ . (D) ( $\geq 2$  carotid plaque; subjects under 40 years old): Steno-Risk AUC: 0.787 (0.715–0.858) versus Modified Steno-Risk adjusted for Clarke score AUC: 0.915 (0.845–0.984),  $p < 0.001$ ; versus Modified Steno-Risk considering the presence of SH AUC: 0.787 (0.657–0.917),  $p = 0.999$ ; versus Modified Steno-Risk considering the Clarke score and the presence of SH AUC: 0.933 (0.882–0.985),  $p = 0.008$ . AUC, area under the curve; SH, severe hypoglycemia.

of preclinical atherosclerosis and aided in identifying individuals with carotid plaques. Furthermore, these two variables were the only modifiable risk factors associated with preclinical atherosclerosis in young individuals (<40 years), a population for which the initiation of cardioprotective drugs in primary prevention is unclear according to the main CVD prevention guidelines.<sup>6,7,35</sup> Our findings suggest that hypoglycemia-related disorders might be useful in identifying individuals who could benefit the most from an intensive approach, particularly among those with few CVD risk factors. However, further verification through large multicenter studies is necessary.

#### AUTHOR CONTRIBUTIONS

All authors have discussed the results and commented on the final version of the manuscript. Alex Mesa, Laura Boswell, Tonet Serés-Noriega, Clara Viñals, Adriana Pané, Camila Milad, Jesús Blanco, Irene Vinagre, Marga Giménez, Enric Esmatjes, and Ignacio Conget acquired and processed all clinical data; Antonio J. Amor and Clara Viñals performed the US measurements. Alex Mesa, Antonio J. Amor, Marga Giménez and Ignacio Conget contributed to the study concept and design. Alex Mesa, Marga Giménez, Ignacio Conget, Verónica Perea and Antonio J. Amor supervised the study and participated in data analysis and interpretation. Alex Mesa and Antonio J. Amor wrote the manuscript, designed the figures and had final responsibility for the decision to submit for publication. Antonio J. Amor is the guarantor of this work and, as such, had full access to all the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

Financial support: A.M. is the recipient of grants from Hospital Clinic de Barcelona ('Contracte Clínic de Recerca Emili Letang-Josep Font 2021') and Associació Catalana de Diabetis (ACD) ('Ajut per la realització d'un master oficial o programa de doctorat 2021'). The authors thank the participants and the staff at the Diabetes unit at Hospital Clínic de Barcelona for important contributions.

#### CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The authors have nothing to disclose.

#### DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

#### ETHICS STATEMENT

The study protocol was conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki and approved by the hospital Research Ethics Committees (HCB/2020/0195). Patients were included after giving their written informed consent.

#### ORCID

Verónica Perea  <https://orcid.org/0000-0001-8104-7326>

Tonet Serés-Noriega  <https://orcid.org/0000-0003-4974-0969>

Clara Viñals  <https://orcid.org/0000-0002-6888-0396>

Antonio J. Amor  <https://orcid.org/0000-0001-9237-0903>

#### PEER REVIEW

The peer review history for this article is available at <https://www.webofscience.com/api/gateway/wos/peer-review/10.1002/dmrr.3785>.

#### REFERENCES

1. Ruiz PLD, Chen L, Morton JI, et al. Mortality trends in type 1 diabetes: a multicountry analysis of six population-based cohorts. *Diabetologia*. 2022;65(6):964-972. <https://doi.org/10.1007/s00125-022-05659-9>
2. Lind M, Svensson AM, Kosiborod M, et al. Glycemic control and excess mortality in type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 2014;371(21):1972-1982. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1408214>
3. Vistisen D, Andersen GS, Hansen CS, et al. Prediction of first cardiovascular disease event in type 1 diabetes mellitus the steno type 1 risk engine. *Circulation*. 2016;133(11):1058-1066. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.115.018844>
4. Serés-Noriega T, Giménez M, Perea V, et al. Use of the steno T1 risk engine identifies preclinical atherosclerosis better than use of ESC/EASD-2019 in adult subjects with type 1 diabetes at high risk. *Diabetes Care*. 2022;45(10):2412-2421. <https://doi.org/10.2337/dc22-0118>
5. Vergès B. Cardiovascular disease in type 1 diabetes: a review of epidemiological data and underlying mechanisms. *Diabetes Metabol*. 2020;46(6):442-449. <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2020.09.001>
6. El Sayed NA, Aleppo G, Aroda VR, et al. 10. Cardiovascular disease and risk management: standards of care in diabetes-2023. *Diabetes Care*. 2023;46(1):S158-S190. <https://doi.org/10.2337/dc23-s010>
7. Blonde L, Umpierrez GE, Reddy SS, et al. American association of clinical endocrinology clinical practice guideline: developing a diabetes mellitus comprehensive care plan—2022 update. *Endocr Pract*. 2022;28(10):923-1049. <https://doi.org/10.1016/j.eprac.2022.08.002>
8. Lyons SK, Boyle CT, DeSalvo DJ, et al. Dyslipidaemia and statin use in individuals aged 10 to <40 years in the T1D Exchange clinic registry. *Diabetes Obes Metab*. 2019;21(1):170-172. <https://doi.org/10.1111/dom.13475>
9. Joy NG, Hedrington MS, Briscoe VJ, Tate DB, Ertl AC, Davis SN. Effects of acute hypoglycemia on inflammatory and pro-atherothrombotic biomarkers in individuals with type 1 diabetes and healthy individuals. *Diabetes Care*. 2010;33(7):1529-1535. <https://doi.org/10.2337/dc09-0354>
10. Giménez M, Gilabert R, Monteagudo J, et al. Repeated episodes of hypoglycemia as a potential aggravating factor for preclinical atherosclerosis in subjects with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2011;34(1):198-203. <https://doi.org/10.2337/dc10-1371>
11. Verhulst CEM, van Heck JIP, Fabricius TW, et al. Hypoglycaemia induces a sustained pro-inflammatory response in people with type 1 diabetes and healthy controls. *Diabetes Obes Metab*. 2023;25(11):3114-3124. <https://doi.org/10.1111/dom.15205>
12. Amiel SA, Aschner P, Childs B, et al. Hypoglycaemia, cardiovascular disease, and mortality in diabetes: epidemiology, pathogenesis, and management. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2019;7(5):385-396. [https://doi.org/10.1016/s2213-8587\(18\)30315-2](https://doi.org/10.1016/s2213-8587(18)30315-2)
13. Gruden G, Barutta F, Chaturvedi N, et al. Severe hypoglycemia and cardiovascular disease incidence in type 1 DiabetesThe EURODIAB prospective complications study. *Diabetes Care*. 2012;35(7):1598-1604. <https://doi.org/10.2337/dc11-1531>
14. Fahrman ER, Adkins L, Driscoll HK. Modification of the association between severe hypoglycemia and ischemic heart disease by

- surrogates of vascular damage severity in type 1 diabetes during ~30 Years of follow-up in the DCCT/EDIC study. *Diabetes Care*. 2021;44(9):2132-2139. <https://doi.org/10.2337/dc20-2757>
15. Mesa A, Giménez M, Pueyo I, et al. Hyperglycemia and hypoglycemia exposure are differentially associated with micro- and macrovascular complications in adults with Type 1 Diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2022;189:109938. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2022.109938>
  16. Jellinger PS, Handelsman Y, Rosenblit PD, et al. AACE 2017 guidelines AMERICAN association of clinical endocrinologists and AMERICAN college of endocrinology guidelines for management of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease. *Endocr Pract*. 2017; 23(Supplement 2):1-87. <https://doi.org/10.4158/ep171764.appgl>
  17. NICE guidelines. Cardio Cardiovascular disease: risk assessment vascular disease: risk assessment and reduction, including lipid and reduction, including lipid modification modification. *NICE Guidel*. 2014;1:1-44.
  18. Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA guideline on the management of blood cholesterol: a report of the American college of cardiology/American heart association task force on clinical practice guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2019;73(24):e285-e350. <https://doi.org/10.1161/cir.0000000000000625>
  19. Jansa M, Quirós C, Giménez M, Vidal M, Galindo M, Conget I. Análisis psicométrico de las versiones en lengua castellana y catalana de un cuestionario de percepción de la hipoglucemia. *Med Clin*. 2015; 144(10):440-444. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2013.11.036>
  20. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2009;150(9):604-612. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-150-9-200905050-00006>
  21. Martínez-González MA, Buil-Cosiales P, Corella D, et al. Cohort Profile: design and methods of the PREDIMED-Plus randomized trial. *Int J Epidemiol*. 2019;48(2):387-388. <https://doi.org/10.1093/ije/dyy225>
  22. Schröder H, Zomeño MD, Martínez-González MA, et al. Validity of the energy-restricted mediterranean diet adherence screener. *Clin Nutr*. 2021;40(8):4971-4979. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2021.06.030>
  23. Amor AJ, Vinagre I, Valverde M, et al. Preeclampsia is associated with increased preclinical carotid atherosclerosis in women with type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105(1):85-95. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgz031>
  24. Mesa A, Cofán B, Esmatjes E, et al. Biomarkers of fatty acid intake are independently associated with preclinical atherosclerosis in individuals with type 1 diabetes. *Eur J Nutr*. 2021;60(8):4595-4605. <https://doi.org/10.1007/s00394-021-02611-2>
  25. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, et al. Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-2006-2011): an update. *Cerebrovasc Dis*. 2012;34(4):290-296. <https://doi.org/10.1159/000343145>
  26. Group TDC, CTR. 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;328:1167-1172. <https://doi.org/10.1056/NEJM199309303291401>
  27. Cano A, Llauradó G, Albert L, et al. Utility of insulin resistance in estimating cardiovascular risk in subjects with type 1 diabetes according to the scores of the steno type 1 risk engine. *J Clin Med*. 2020;9(7):1-12. <https://doi.org/10.3390/jcm9072192>
  28. Pané A, Conget I, Boswell L, et al. Insulin resistance is associated with preclinical carotid atherosclerosis in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2020;36(7):e3323. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3323>
  29. Chillarón JJ, Goday A, Flores-Le-Roux JA, et al. Estimated glucose disposal rate in assessment of the metabolic syndrome and microvascular complications in patients with type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(9):3530-3534. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-0960>
  30. Amor AJ, Ortega E, Perea V, et al. Relationship between total serum bilirubin levels and carotid and femoral atherosclerosis in familial dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017;37(12):2356-2363. <https://doi.org/10.1161/atvbaha.117.310071>
  31. Standl E, Stevens SR, Armstrong PW, et al. Increased risk of severe hypoglycemic events before and after cardiovascular outcomes in TECOS suggests an at-risk type 2 diabetes frail patient phenotype. *Diabetes Care*. 2018;41(3):596-603. <https://doi.org/10.2337/dc17-1778>
  32. Khunti K, Davies M, Majeed A, Thorsted BL, Wolden ML, Paul SK. Hypoglycemia and risk of cardiovascular disease and all-cause mortality in insulin-treated people with type 1 and type 2 diabetes: a cohort study. *Diabetes Care*. 2015;38(2):316-322. <https://doi.org/10.2337/dc14-0920>
  33. Giménez M, López JJ, Castell C, Conget I. Hypoglycaemia and cardiovascular disease in Type 1 Diabetes. Results from the Catalan National Public Health registry on insulin pump therapy. *Diabetes Res Clin Pract*. 2012;96(2):e23-e25. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2012.01.014>
  34. Lu CL, Shen HN, Hu SC, Wang JD, Li CY. A population-based study of all-cause mortality and cardiovascular disease in association with prior history of hypoglycemia among patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2016;39(9):1571-1578. <https://doi.org/10.2337/dc15-2418>
  35. Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, et al. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J*. 2021;42(34):3227-3337. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab484>
  36. Baber U, Mehran R, Sartori S, et al. Prevalence, impact, and predictive value of detecting subclinical coronary and carotid atherosclerosis in asymptomatic adults: the bioimage study. *J Am Coll Cardiol*. 2015; 65(11):1065-1074. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.01.017>
  37. Gimenez-Perez G, Franch-Nadal J, Ortega E, et al. Clinical characteristics and degree of glycemic and cardiovascular risk factor control in patients with type 1 diabetes in Catalonia (Spain). *J Clin Med*. 2021;10(7):1-11. <https://doi.org/10.3390/jcm10071536>
  38. Pinés Corrales PJ, Arias Lozano C, Jiménez Martínez C, et al. Prevalence of severe hypoglycemia in a cohort of patients with type 1 diabetes. *Endocrinol Diabetes Nutr*. 2021;68(1):47-52. <https://doi.org/10.1016/j.endinu.2020.01.002>
  39. Giménez-Pérez G, Viñals C, Mata-Cases M, et al. Epidemiology of the first-ever cardiovascular event in people with type 1 diabetes: a retrospective cohort population-based study in Catalonia. *Cardiovasc Diabetol*. 2023;22(1):1-10. <https://doi.org/10.1186/s12933-023-01917-1>

## SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

**How to cite this article:** Mesa A, Giménez M, Perea V, et al. Severe hypoglycemia and hypoglycemia awareness are associated with preclinical atherosclerosis in patients with type 1 diabetes without an estimated high cardiovascular risk. *Diabetes Metab Res Rev*. 2024;e3785. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3785>



#### **ARTÍCULO 4: EFECTIVIDAD DE LA MONITORIZACIÓN FLASH DE LA GLUCOSA EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 1 E HIPOGLUCEMIA RECURRENTE**

**INTRODUCCIÓN:** Se desconoce el impacto en vida real del inicio de MFG por hipoglucemias de repetición en pacientes con DT1. Nuestro objetivo fue evaluar la efectividad en la prevención de HG y reducción de la exposición a la hipoglucemia en pacientes con DT1 e hipoglucemia recurrente.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** Estudio observacional, ambispectivo en pacientes con DT1 en tratamiento con múltiples dosis de insulina (MDI) y con hipoglucemias de repetición, que iniciaron la MFG con alarmas opcionales (FreeStyle Libre 2) bajo financiación pública entre junio de 2020 y mayo de 2021. El objetivo primario fue el número de HG en el último año y de forma secundaria se estudió el tiempo en hipoglucemia (TBR<70 y TBR<54), el TIR, la percepción de la hipoglucemia mediante test de Clarke y la calidad de vida mediante cuestionario EsDQOL; al inicio y después de 12 meses con MFG. Por último, se utilizaron modelos de regresión logística para analizar variables asociadas a una disminución del TBR <70 ya un aumento del TIR.

**RESULTADOS:** Se incluyeron un total de 110 pacientes, 52,7% mujeres, edad media 47,8±23,6 años y tiempo de evolución de la diabetes de 23,6%±13,5 años. Al año de seguimiento, los eventos de HG disminuyeron de 0,3±0,6 a 0,03±0,2 (p<0,001). Se observó una reducción de los pacientes que presentaron HG (26,4% vs 2,9%, p<0,001) e hipoglucemia desapercibida (47,1% vs 25,9%, p=0,002), así como mejora en la calidad de vida. No se observó un descenso significativo del tiempo en hipoglucemia, aunque sí en el subgrupo con control glucémico estrecho (GMI<7%) (TBR<70 9,8±9,1 vs 7,2±8,0, p=0,027). En los modelos multivariantes, el GMI inicial se asoció inversamente con un descenso del TBR<70 [OR 0,37 (0,15-0,93), p=0,034] y directamente con un aumento del TIR [OR 2,10 (1,03-4,28), p=0,042] después del inicio de la MFG. Asimismo, la hipoglucemia desapercibida [OR 2,91 (0,73-0,99), p=0,041] y el coeficiente de variación inicial [OR 1,11 (1,02-1,20), p=0,012] también se asociaron independientemente con la reducción del tiempo en hipoglucemia tras el inicio de la MFG.

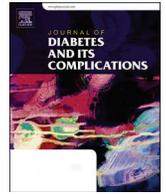
**CONCLUSIONES:** La MFG disminuyó los episodios de HG y mejoró la percepción de la hipoglucemia y la calidad de vida. El control glucémico estrecho inicial se asoció a un descenso del tiempo en hipoglucemia después de la MFG, mientras que el control glucémico subóptimo se relacionó con un descenso de la exposición a la hiperglucemia.





; axucndiayi\* gnTprpncvi,miDas f oenrgac m

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jdiacom](http://www.elsevier.com/locate/jdiacom)



Hyperglucopemia nndihoxeanpis ac graug hie if nrgc mit gdirwf pi- ivgnTprpnc viupexuupridwf ahoveps gnTprt ppcipnuowinc vionrpinmhprinyrpu nndi hoxeanpis ac graug hie ggrgaci

1 nenupc niDac rupnm<sup>bl</sup> liAqm1 prn<sup>Tb</sup> li,upc piGxpwa<sup>Ti</sup> li nugniDonua<sup>Ti</sup> Dns gni1 gonv<sup>Ti</sup> Donuzi g<sup>non</sup>li\* nugnil aen<sup>Ti</sup> li ac rmpip uncvam<sup>Ti</sup> li nuhniP g<sup>pc</sup> pV<sup>Tbevb</sup> li,hc negaiDachpr<sup>Tbevi</sup>

<sup>a</sup> Di abetsi b bU, Ei a, doacsbi, r l gEty li dlu bpgsE, mi aE, al, E, r lli i pE, Cby lMH ENf EatsaNBgEsi, <sup>T</sup> r sESl d p, Hi saNDi abetsi b bU, Ei a, doacsbi, r l gEty li dAni r i Nu bpgsE, m R se, al, (Etel bi ENBgeSi, <sup>c</sup> A v qB, A pscoc, a' si R psLEesbi p, Sby lasf ol p, v oUpq, s, s, Boi ni tui( Etel bi ENBgeSi, <sup>v</sup> m( DTr D, ) m i atb, al, A R psLEesbi, li, Tl a, al, r sESl d p, n, Di lly laEal p, l l eSb seEpui EatsaNBgEsi, ,,

A I J , D ú Hi, B S N i i

A E L J I A D J i i

hlnXbtapx  
Jwf pi- ivgnTprpnc  
Scandihoxeanpis ac graug hi  
I pexuupridwf ahoveps gn  
Lpl pupidwf ahoveps gn

v sy px Hl nox nri r d p i pypergl pc pmiayi upg Txupvi nndi hoxeanpis ac graug hit gdi af r gacnd nonus nijSP 1 . i g: if upR l p c r g: h i n p l p u p i d w f a h o v e p s g n i j L F . i n c v i u p v x e g: h i d w f a h o v e p s g n i p M a n x u p i g: i J - \* i f n r g c m i f u a c p i r a i d w f a h o v e p s g n 0 f l a k b a p x A s T g n i p e r g p i n x v v i g: i J - \* i f n r g c m i r u p n r p v i t g d i s x o r g q i v n g w i g: l p e r g a n i j 1 \* , i n c v i f u a c p i r a i d w f a R h o v e p s g n i g: g r g r g: h i u p g T x u p v i S P 1 i j S u p L r v p i u g T u p i ( . 0 j d p i f u g n u w i a x r e a s p i t n n i r d p i c x s T p u i a y i L F i p l p c m n j u p ) x g g: h i r d g w i f n u r w i n n g m n c e p . i n c v i s n g: i n p e a c v n u w i a x r e a s p n i t p u p i r g s p i T p o a t i u n c h p i < : 4 i j J E I i < : 4 . i n c v i < 0 5 i s h 7 v u j J E I i < 0 5 . l i g s f n g p v i n t n u p c p m i a y i d w f a h o v e p s g n i j , A F . i n c v i ) x n g w i a y i q s p i j 8 a u . 0 a h g n g e i u p h u p n g a c i s a v p o i t p u p i e a c n u x e r v i r a i p M a u p i l n u g n T q i n r i n n a e g n r p v i t g d i n x e e p n i a y i r d p i g: r p u l p c r g a c 0 T l p o q x q p i g e o k v p v i - - 4 i f n r g c m i j 0 ( 0 i W i t a s p c l i s p n c i n h p i 5 : 0 i ± - : 0 i w p n u m 0 L F i p l p c m i n r i - R p n u i a o a t R f i v p e u p n n p v i u a s i 4 0 i ± 4 0 i r a i 4 0 6 i ± 4 0 i j g , < 4 0 4 - . 0 L g h c g e n c r i u p v x e r g a c n i g: i f n r g c m i f u p n c r g: h i n c i L F i j ( % 0 i W i l n 0 0 i W i f i < 4 0 4 - . i n c v i , A F i j 5 : 0 i W i l n 0 0 i W i l g , = 4 0 4 ( . i t p u p i a T n p u l p v l i n n i t p o d i n n i g s f u a l p s p c m i g: i 8 a u 0 J E I i < : 4 i n c v i J E I i < 0 5 i t p u p i a r i n g h c g e n c r o i u p v x e p v 0 E n n p o g p i P 1 , i t n n i g: l p u p o v i n n a e g n r p v i t g d i n i v p e u p n n p i g: i J E I i < : 4 i j N I i 4 0 : i j 4 0 0 - 4 0 6 . 3 i n c v i v g p e r o v i t g d i n c i g: e u p n n p i g: i r g s p i g: i u n c h p i : 4 - 2 4 i s h 7 v u j N I i ( 0 4 i j - 0 6 - 5 0 2 . 3 0 m b i e o p s b i p x S P 1 i v p e u p n n p i L F i n c v i g s f u a l p v i d w f a h o v e p s g n i t n u p c p m i n c v i 8 a u 0 , c g g n d r g h d r i h o v e p s g e i a c r u a d t n n i n n a e g n r p v i t g d i n i v p e u p n n p i g: i d w f a h o v e p s g n i t d g p i f n r g c m i t g d i n x T a f r g s n d e a c r u a d u p v x e p v i d w f u h o v e p s g n 0 i

1. Introduction

Fwf ahoveps gnignrdpis annieas s acieas f oenrgaciaiyirwf pi- ivgnTprpnc jJ- \* . incviups ngc ninis nlaucg ggc hi ynerauigc inrnrgc ghinciaf rgs ndhowR eps geieacruadg: i rdgnif af xonrgac 0Sup) xpcrincvi upf pnrpvi pf gnavpniayi dwf ahoveps gninos amixcnyggc hovi upnari g: i g: f ngupvint nupc pmiayi dWR f ahoveps gnij, AF . lig: eupnngc hirdpiugmiiayinirpl pupidwf ahoveps gnijLF . lincipf gnavpiup) xggc hinrnrgnc epiayinc ardpuf puna ciyau uepal puwOLF ipl pc mndnl pi nrai Tppcinma egnrpvi t gdi dghdi hoxeanpi l nugnTggw flncvi aeexui nos aminniayrcig: if nrgc mit gdirghdrihoveps geieacruadinnrgcirdanpit gdi nTaf rgs nd hoveps geieacruad<sup>bl</sup> Snui yas i Tpgchi npevamdi LF i gn

pM pugc epv iTwac pRdgwiyaf nrgc mit gdiJ- \* inriqpnmiac epiniwpuinc vigi gnrdpienx npiayl5-- 4iWiayinai v pnrdrng: iJ- \* 5-%

Dacrg: xaxnihoxeanpis ac graug: hijDP 1 . lipgrdpu upndRgs pijurDP 1 . iauig: rpus grpcrowRenc cpvij nndihoxeanpis ac graug: hiauiSP 1 . lidnninghc g R encrowiednc hvpirdpis ncnhps pcriayJ- \* linnigipcnTqinixurdpuis ac graug: hiaui hoxeanpi qpl pait gdaxri [ chpuRngfig: hi rpnng: h0SP 1 i nrc na uni acaoi runcns gri vnmit dpcirdpwi nupi nancepvi t gdi ni upnv: hi vpl gepli Txri r d p i n v l n c r m h p n i g e o x v p i o a t p u i e a n n i n c v i y n e a u w i e n g l u n r g a c 0 S P 1 i d n n i v p s a c n u n r p v i r a i u p v x e p i r g s p i n i p c r i g: i d w f a h o v e p s g n i g: i u n c v a s g p v i e g: g e n d r u g n i j I D J . l i g: i T a r d i f n r g c m i t g d i r g h d r i n c v i n x T a f r g s n d h o v e p s g e i e a c r u a d <sup>bl</sup> S x u r d p u s a u p i n i v p e u p n n p i g: i h o v e p s g e i l n u g n T g g w <sup>9</sup> a n c v i L F i

C Daupnri acvg: hinxrdaui nrl<sup>bl</sup>\* gnTprpnc@griHcvaueg: aohwncviBxruagaci\* pf nurs pcrif anfgnd Dgg: geivpiEntepocnliDnuupi vpi gmuapdi- : 4li4246%Entepocnli Lfng: 0

Dy Es, Eaatl ppxhgs pc pV/ eqg: g@nri j1 0P g<sup>pc</sup> pV. 0ii <sup>i</sup> J d p p i n x r d a u n i e a c r u g l x r p v i p ) x n o a w

pf gnavpm<sup>41</sup> nnt poinnis f ual ps pcmig: i) xngwiyagpb<sup>1</sup> ncviupnaungaciyai dwf ahoveps gni nt nupc pnm<sup>41</sup> dnl pinorai Tppci vaexs pcrpvig: i upndR auvi onthpi f af xngac Rf nnpvi vnmi nrm<sup>0</sup> F at pl publi upndR auvi vnmi aci rdpi pypverg pc pnniayi SP1 ig: gngac ig: idwf ahoveps gni upna xrgac ig: if nrpc mti t gdiupex upc ridwf ahoveps gni gni nneup<sup>0</sup> l apul pubig: yaus nrgaciacit dgedi f nrpc mti Tpc pl rirdpis amit gdi SP1 incvit dgediac pmit gdi c p pvi xurdpi af rgs g vngac i j p<sup>0</sup> n p c r a u f x h s p c r p v i f x s f m a u i n x r a s n r p v i g : m x q c i v p R q j p u i n m v m p s m i g n i n o r a i c p p v p v 0

,ciDnmac gnijLf ngc. lif xTgeixcvg: hia yiDP1 iya uinof nrpc mit gdiJ- \* i Tphncig: i (4- 2) blyaat gch inpl pundeac npxerg pif dnm pniya urdpgi v g m g T x R r g a c u n . i x n p u n i a y e a c r g : x a x n i m x T e m c p a x n i g : n x q c i g x n g a c i n v m p s n i j D L , , i t g d i u p e x u p c r i d w f a h o v e p s g n l i f u p h c n e r i t a s p c i a u e d g v u p c i x f i r a i % v p n u n i a y i n h p f t . I e d g v u p c i n c v i n v a o n p e m i j % - 2 i w p n u m a f l e . i n v x o m i u p n r p v i t g d i s x o r g p i v n g v i g : l p e r g a c m i j \* , . i n c v i t g d i u p e x u p c r i d w f p u p i n c v i v g m T g c h i d w f a h o v e p s g e i p f g r a v p n i a u i d w f a h o v e p s g n i x e n t n u p c p n m i f v . i n v x o m i t g d i f a a u s p m T a g e i a c r u a d f p . i n a i a r d p u i f n r p c m i t g d i J - \* O<sup>1</sup>

,cirdpi f upnc r i n x v v l i a x u i n g s i t n n i r a i p l n o x n r p i r d p i p y p e r g p c p n n i a y i u p s T x u n p v i S P 1 i g : g n g a c i g : i f u p l p e r g h i L F i n c v i u p v x e g h i d w f a h o v e p s g n i p M a n x u p i g : i n i e a d a u r i a y i f n r p c m i t g d i J - \* i r u p n r p v i t g d i l \* , i n c v i f u a c p i r a i d w f a h o v e p s g n i A v v g r a c n o v l i n n i p e a c v n u w i a x r e a s p n i t p i n o r a i n n r p n p v i g n i p y p e r g p c p n n i g : i u p n a u g : h i , A F i n c v i g s f u a l g : h i a l p u n o i h o v e p s g e i e a c r u a d n c v i ) x n g w i a y i g p O q p i x u r d p u i p M a u p v i T n n p c g : p i e d n u n e r p u g n e n i n n a e g R n r p v i t g d i n x e e p n n i a y i r d p i g r p u l p e r g a c 0

2. Subjects, materials and methods

: -2- Boan, al ps l , E i a , g E t c s e g E i q

q i e a c v x e r p v i n c i a T n p u l n r g a c n d i n s T g n i p e r g p l i n g : h o p R e c r u p i n x v w i n r i F a n i g m d D o g : g e i a y i E n u e p a c n l i g : i n v x o m i t g d i J - \* i r u p n r p v i t g d i l \* , O q p i n m p s n r g e n o v i g : e o x p v i n a i r d a n p i t d a i g : g n r p v i u p s T x u n p v i S P 1 l i t g d i a f r g a c n d i n o n u s n i j S u p p l a r w o i u g T u p i ( i j A T T a m i \* g n T p r p n i D n u p l i q g r e p w i @ K . . l i v x p i r a i u p e x u p c r i d w f a h o v e p s g n i j > 5 i d w f a h o v e p s g e i p l p e m t p p f i a u i > ( i L F i g : i r d p i n n i ( i w p n u m i a u , A F i T p r t p p c i ; x c p i ( 4 ( 4 i n c v i l n w i ( 4 ( - O A o i f n r p c m i t n u r g e f n r p v i g : i n i n u x e r x u p v i r d p u n f p x r g e i p v x e n r g a c i f t a h u n s i g : i t d g e d i r d p w i n e e p n p v i n r i o n n i [ l p i l g r g n i t g d i r d p i v g n T p r p n i p v x e n r a u i j T n n p c g : p l i n r i - i s a c r d n l 6 i % n c v i - ( i s a c r d m 0 , c i n v v g r a c l i r d p w i n r p c v p v i u a x r g : p i l g r g n i t g d i r d p a i r u n r g : h i f d w n g e n c i v x u g : h i r d p i n x v v l i n x n o v i n e d p v x o p v i l p u i n g M s a c r d n 0 n c o w i f n r p c m i p M e o x n g l p o v i x n g : h i [ c h p u n g e f i r p n g : h i y a u i h o x e a n p i s a c g a u g h i t p u p i g e o x v p v i n c v i f n r p c m i t d a i d n v i f u p l g a x n o v i x n p v i n i S P 1 i a u i D P 1 i n v m p s i t p u p i p M e o x p v p 0

J d p i n x v v i f u a r a e a d t n n i e a c v x e r p v i n e e a u g : h i r a i r d p i f u g : e g f o n i a y i r d p i \* p e c u n r g a c i a y i f p o n g : f i g O a f f u a f u n r p i g : m a x r g a c n d i u p l g t i T a n u v i n f f u a l n d t n n i a T m g : p v i r a i f p u y a u s i r d g n i n c n o v n g 0 G n r g p c m i t p u p i g e o x v p v i n y r p u i f u a l g y : h i g : y a u s p v i e a c n p c r 0

: - : - q t b e l a o t l p

E n n p c g : p i f n r p c r i e d n u n e r p u g n e n i t p u p i e a c o p e r p v i n r i g : e o x n g a c i j n p M i n h p l i v g n T p r p n i v x u n r g a c l i n c v i f u p n p e e p i a y i s g e a R n e v i s n e a l n n e x o n i e a s f o R e n r g a c n 0 G n u r g e f n e m i t p u p i n n i p v i r a i u p f a u r i a c i d a t i s n e w i L F i p l p e m i r d p w i d n v i p M p u g c e p v i g : i r d p i n n i - ( i s a c r d n i n r i T n n p c g : p i n c v i n y r p u i - i w p n u a y i S P 1 i g : g n g a c 0 F T A - e i t n n i v p r p s g e p v i g : e n f g o n u w i T a a v i x n g : h i r d p i L g s p e n i t \* D a i A c n o w p u i j A c u p i A [ c g a c i J 1 i A L - 4 4 i A c n o w p u i j A T T a m i \* g R n h c a m g e n i j p e d c a o h g n i n A l L i n n a l i B a u t n w . i n r i T n n p c g : p i n c v i n r i a c p R p v n u i y a o a t B f 0

\* g y p u c e r i ) x p n g a c c n g p n i t p u p i n o r a i f u p n p e r p v i r a i f n u r g e f n e m i n r i T n n p c g : p i n c v i - ( i s a c r d n 0 F w f a h o v e p s g n i t n u p c p n m i t n n i n n p n p v i x n g : h i r d p i D o n u f i p i r p m i n a u p i j < 6 U c a u s n d l 6 U x e p u n g : f l > 5 U f s f n g p v i n t n u p R c p n n i O<sup>6 b 5 i</sup> 8 x n g w i a y i g p t n n i p l n o x n r p v i x n g : h i r d p i l n g v n r p v i n c v i n v n f r p v i L f n e g n d i l p u n g a c i a y i r d p i \* g n T p r p n i 8 x n g w i a y i u g p i j H n t 8 a u i . i ) x p n g a c R c n g p b<sup>0 i</sup> n i p e g f e i a u J - \* l i t d g e i e a c n g n i a y i 5 i n e o n p n i n n r g n g n e r g a c i j H n t R 8 a u - f i e g e f n e r i j H n t 8 a u ( . f l n e a g d e a c e p u c i j H n t 8 a u 6 . f l n e v i v g n T p r p n i u p o n r p v i e a c e p u c i j H n t 8 a u 5 . 0 , c i r d p i \* 8 a u i ) x p n g a c c n g p l i r d p i o a t p u i r d p i n a u p l i r d p i T p r p u i f p u e p f r g a c i a y i ) x n g w i a y i o p 0 , c i n v v g r a c l i r u n r s p e r i n v d p u c e p i t n n i p n g s n r p v i x n g : h i r d p i l p o g R n u p i , c l p c r a u w R p l g n v i j L D , H . i

r p n i n e a u p i j > % 0 U d g h d i n v d p u c e p . O<sup>0 b</sup> %

D P 1 i v n n i t p u p i n o r a i a T m g : p v i v x u g : h i r d p i [ u n n i r a i t p p f i n a y i x n p i j T n n p c g : p . i n c v i n y r p u i - ( i s a c r d n 0 D P 1 R v u g l p v i - 5 R n w i h o x e a s p r u g e n i a y i T a r d i f p u g a v n i t p u p i e a c o p e r p v i y a s i x f a n v n i y a s i p n e d i f n r p c r i g : e o x v g : h i n p c r a u i x n p l i v n g w i n e n c n i s p n c i h o x e a n p l i e a p y f e g c r i a y l i n u g r a c i j D z . l i h o x e a n p i s n e n h p s p e r i g v g e n a u i j P 1 , . i n c v i f u a f a u r g a c i j W . i a y i r g s p i t g d i h o x e a n p i e a c e p e r u n r g a c m i g : i d w f a h o v e p s g n i j < 0 5 i s h 7 v u i j J E I i < 0 5 . i n c v i < : 4 i s h 7 v u i j J E I i < : 4 . l i g : i u n c h p i : 4 - 2 4 i s h 7 v u i j J , I . i n c v i g : i d w f p u R h o v e p s g n i j > - 2 4 i s h 7 v u i j J A I i > - 2 4 . i n c v i > ( 0 4 i s h 7 v u i j J A I i > ( 0 4 . . 0 N c o v i a t c a n v n i t g d i n i n p c r a u i x n p i > : 4 i W i t p u p i e a c n g v p u p v 0

J d p i S P 1 i v p l g e p n i f u a l g y p v i a f r g a c n d n o n u s n 0 , c g g n o v i r d p n p i n o n u s n i t p u p i n p r i a u i h o x e a n p i l n o x p n i t p o a t i 2 4 i s h 7 v u i n c v i l n o x p n i n T a l p i ( 0 4 i s h 7 i v u 0 A o r d a x h d i f n u r g e f n e m i t p u p i p e e a x u n h p v i r a i s n g : m g : i n o n u s n i n p r r g : h i e a s f o n e p i t n n i c a r i e d p e f i p v 0 A v v g r a c n o v l i n i s g : g s x s i a y i % n e n c n i f p u i v n w i t n n i u p e a s s p e v p v 0

S g n o v i g : n g : e r u p n r s p e r i t n n i u p h m p u p v i n r i p n e d i f a g : r i g : i r d p i n x v v i j T n n p c g : p i n c v i - ( i s a c r d m i u p h g s p c i x n p v i j 1 \* , i a u i D L , , l i r v f p n i a y i g : m x q : i n v s g n p u p v i n c v i g : m x q : i v a n p n i j r a m d i T n n m i n c v i f u n c v g i o 0

: - : - 1 o e b y l p

J d p i f u g s n u v i p e v f a g : r i t n n i r d p i e d n c h p i g : i r d p i c x s T p u a y i L F i p l p e m i g : i r d p i n n i v p n u i T p r t p p c i T n n p c g : p i n c v i - ( i s a c r d n i n y r p u i S P 1 i g : g n g a c 0 J d p i v p l c g g a c i a y i L F i r d u a x h d a x i r d p i n x v i w g n e a c n g m p c r i t g d i u p l p d 6 i d w f a R h o v e p s g n i e e a u g : h i r a i A s p u g e n i \* g n T p r p n i A n n a e g r a c i j A \* A . l i t d g e d i g n i e d n u n e r p u g v p v i T w i g s f n g a p v i s p e m d n c v 7 a u i f d w n g e n d y x c e r g a c g : h i r d n r i u p R ) x g p n i r d p i n n g m c e p i a y i n c a r d p u i f p u r a c i r a i u p e a l p u O<sup>1</sup> i G u p n i p e g f p v i n p e R a c v n u w i p c v f a g : m i t p u p i e d n c h p n i g : i d w f a h o v e p s g n i t n u p c p n n i c v i ) x n g w i a y i g p i r d u a x h d a x i r d p i n x v v 0 N r d p u i n p e a c v n u w i a x r e a s p n i t p u p i e d n c h p n i g : i r g s p i g : i d w f a h o v e p s g n i j J E I i < 0 5 i n c v i J E I i < : 4 . i n c v i g : i a r d p u i D P 1 H v p u g p v i h o x e a s p r u g e n i j J , I l i J A I i > - 2 4 l i J A I i > ( 0 4 l i P 1 , l i n c v i D z . l i T p R r t p p c i T n n p c g : p i n c v i - ( i s a c r d n 0

: -3- B e C p c s e E , E i E n p l p

\* n n i n u p i f u p n p e r p v i n n i s p n c i ± n n c v n u v i v p l g r g a c i a u i n n i a n g a n i a u i f p e u p e m h p n 0 D a s f n u r g a c n i a y e a c r g : x a x n i l n u g n T p n i t p u p i f p u y a u s p v i x n g : h i n i f n g p v i L r x v p c r \* n i c R p n i G u a f a u r g a c n i t p u p i e a s f n u p v i x n g : h i n i l e B p s n u i r p n i 0 S a u i r d p i n c n o v n g n i a y i h o x e a s p r u g e n i s p r r g : h i h a n o i n e d g l p s p e r l i r d p i h o x e a s p r u g e i h a n o i p n n i T g n d p v i g : i r d p i ( 4 - 9 i , c r p u c n r g a c n d D a c r p e n n i t p u p i e a c n g v p u p v O<sup>2 b 2 i</sup> A n i n c i p M a u n r a u i n c n o v n g n i n x T h u a x f n i t p u p i n o r a i p l n R x n r p v i T w i v g g y : h i r d p i e a d a u r i n e e a u g : h i r a i g : g n d h o v e p s g e i e a c r u a d n n p n p v i T w i P 1 , i j P 1 , i ≥ : i W i j ≥ 0 6 i s a a O s a o i n c v i < : i W i j < 0 6 i s a a O i s a o . l i g : g n d h o v e p s g e i l n u g n T g g w i j D z i ≥ 6 % W i n c v i < 6 % W . i n c v i f u p n p e e p i a y i , A F i j D o n u f i p i r p m i ≤ ( i n c v i ≥ 5 . 0 D a s f n u r g a c n i a y e a c r g : x a x n i l n u g n T p n i T p r t p p c i n x T h u a x f n i t p u p i f p u y a u s p v i x n g : h i n c i x e f n g p v i L r x v p c r \* n i c R p n i l i t d g p i f u a f a u r g a c n i t p u p i e a s f n u p v i x n g : h i n i e d g n i ) x n p i r p n 0

J a i n p n u e d i y a u i g : v p f p e v p e r i u p o n r g a c n d g f n i T p r t p p c i v p e u p n n g : h i d w f a R h o v e p s g n i p M a n x u p i j v p e u p n n g : h i J E I i < : 4 i > - i W l i v p f p e v p e r i l n u g n T q . i n c v i T n n p c g : p i h o v e p s g e i e a c r u a d j P 1 , l i g : v p f p e v p e r i l n u g n T q . f l t p i e a c R n n x e r p v i n i a h g n e i T g : n u w i u p h u p n g a c i s a v p a r d n r i g : e o x v p v i n h p l i n p M i g : g n d D z l i c x s T p u a y i n e n c n v n w i n c v i , A F i j D o n u f i p i n a u p i ≥ 5 . i n n i e a l n u g n r p n 0 A v v g r a c n o v l i n n i n c i p M a u n r a u i n c n o v n g n i r d p i n n s p i s a v p o n i t p u p i n o r a i n f f o n o i r a i n p u e d i y a u i g : v p f p e v p e r i u p o n r g a c n d g f n i T p r t p p c i f u a l g : h i a l p u n o i h o v e p s g e i e a c r u a d i g : e u p n g : h i j , I > 6 i W l i v p f p e v p e r i l n u g n T q . i n c v i T n n p c g : p i h o v e p s g e i e a c r u a d j P 1 , l i g : v p f p e v p e r i l n u g n T q . 0 S g n o v l i n o r a i n n i n c i p M a u n r a u i n c n o v n g n i n x e d i n c n o v n p n i t p u p i n o r a i f p u y a u s p v i x n g : h i v g y p u c e r i r d u p n l a o v n i a y i s g : g s x s i n e n c n i f p u i v n w i j > % i ≥ 9 l i n c v i > - ( . l i g : m p n v i a y i s p n c i c x s T p u a y i n e n c n v n w 0

, E i l G L L i L m r g n e n i l p u n g a c i ( 0 G i j , E 1 i L G L L i L m r g n e n i t A u s a c f i l i B Q . i t n n i k n p v i r a i f p u y a u s i r d p i n n r g n g e n d i n c n o v n g 0 A o a r p n n i t p u p i t a R n g p v i n c v i n g h e g f e n c e p i t n n i e a c n g v p u p v i g i g R n o x p i < 4 0 0 0

3. Results

. -2- qEcl i c, Ei a, al Ecy li c, eKEtEed tpxep

Airandayi- 4if nrpc mit pupig: eoxvpvbi02it pupit as pcij0(0iW. bit grdi nis pnci nhpi ayi 5: Q2 ± - : Q1 vpwuninc vi ( 6Q4 ± - 6Q1 vpwunaiy vgnTprni vxunrgac QAciaiyrdps it pupirupnrpvit grdi1 \*, Q1 pnciF TA- eit nrit QiWi± 4Qij0: ± 9is s aQs ao incvieduc geias f qenrgac mit pupif upnrp rig: i (%Qi Wi ayi rdpi g: vgl gxnominri Tnmpg: pQ( %Qi Wi dnvi pM pupcepvni qnmi - i pf gva vpiayLF ig: irdpionmi vpwuninc vi 5% Qi Wi dnvi, AF Q1 dpi Tnmpg: piednuR nerpu ggninc vig: nrg: irdpunf wvnmnri Tnmpg: pinupindat cig: j nTqpi- Q1 dpi xacinc novgniri- (is acrdmjaat Rk feaxoviTpi f pua s pvig: i- 44if nrpc mit j94Q iW. Q

. - : - msi seE , Ei a, Uoeby l tse, boeby l p

Jdpupi t nmi ni nheg g encri upvxergaci g: i rdpi cxs Tpu ayi LF i pl pc mni aeexug: hini- Rvnuiaaat Rk feas f nupvirairdpif upl gaxnrvnuj 4Q6 ± 4Q6 pf gva v p7vntul nQ4Q6 ± 4Q ipf gva v p7vntulig, < 4Q4- . Q1 dpi puepc mhpiay i nrpc mit upnrp rig: hinc iLF inoivpeupnrvingh g encrovij ( %Qi Wil nQ QiWi f i < 4Q4- . Q\* pni gpinirp vpc ewirai upxepidw f ahoveps gnipM anxupij JEI i < : 4incvi JEI i < 05. lic aingh g encriv gypupepnit pupia Tnpul pvij J nTqpi ( . Q I phnuvg: hi npeac vnuw axreas pni ni upvxergaci g: i rdpi f puepc mhpi ayi f nrpc mit grdi , AF ij 5: Q1 nQ (0Q lig, = 4Q4( . i ncvi g f ual ps pc mng: i ) xngviayigypit pupinoraia Tnpul pvinyrpu- ivpnuit grdi SP 1 ij J nTqpi ( . Q1 dpi gri eas pni rai al pnci ahoveps gei eacruadi cpgdpu DP 1 Rvpu g pvi J, I i caui F TA- einhg g encrowiednc hpirduaxhdaxrirdpi nmxvQlf peg encovif TA- ei ednc hpv i Twipmrdnc i ± 4Q inc vi ± - Q1 f ag: rieas f nupvirai Tnmpg: pig: i 5Q i Winc vi 2- Qi Wi ayirdpieadaurliupni perg povij Lxf f qps pc mwi Sgh Q . Q

, cirdp i x Thuaxf inc novgnij J nTqpi 6. ligrit nna Tnpul pvirdnrig: if nrpc mit t grdincig: gnd rghdi hoveps gei eacruadi p 1 , i < : iWij < 06is s aQs ao. i JEI i < : 4ingh g encrovipeupnrvij - ( %Q lig, = 4Q( : . lit grdicaiednc hpig: i J, I lit dgpirdanpif nrpc mit grdig: gnd r g Taf r g nd hoveps gei eacruadi p 1 , i ≥ : iWij ≥ 06is s aQs ao. if upnrp rvininrnrgenovingh g encrig eupnnpig: i J, I ij + 5Q iW lig, = 4Q40. it grdicaiednc hpig: idw f ahoveps gnipM anxupQ pi noraia Tnpul pvirdnri SP 1 idnvinis nlaug s f neriacy nrpc mit grdidghdi hoveps gei l ngnTggwit grdincig: g encrivpeupnrvig: irg pig: idw f ahoveps gnij JEI i < : 4i2Q i ± 2Q i nQ i ± : Q lig, = 4Q46.4 ij J nTqpi 6. Q1 aingh g encriv gypupepnit pupia Tnpul pvit dpci pl noxrg: hirdpipy per g pc mniacy if nrpc mit t grdi, AF ij Lxf f qps pc mwi J nTqpi- . hinc virdpupit pupic aingh g encriv g R ypucepnig: irdpic x s Tpu ayi nnc nneawg: hiraidw f ahoveps gnint nupc pni nmxrn j- ( Qi ± 2Q i l nQ - - Qi ± 0Q fl g, = 4Q54. Q1 dpi Tnmpg: pi

Table 1 Ddnunerpu ggnia yirdpinxv wif nurg: g nc mni

	Aacif nurg: g nc mni, i - - - 4. i
Sps nqi	02ij0( QiW. i
Ahpij vpwunmi	5: Q2 ± - : Qi
* gnTprni vxunrgac ij vpwunmi	( 6Q6 ± - 6Q1
Dduac geias f qenrgac ni	( 9ij( %QiW. i
I prg: af nrdwi	( 6ij( 4Q iW. i
B pf duaf nrdwi	9ij2Q iW. i
Dnuv gal nmaxoniv gpnpi	- - ij- 4iW. i
Lpl pupidw f ahoveps gnig: irdpionmi vpwunij ≥ - ipf gva v. i	( 9ij( %QiW. i
, s f ngpv idw f ahoveps gnint nupc pni j Donufipirpni ≥ 5. i	5: ij5Q iW. i
F TA- eij Wljs s aQs ao. i	: Qi ± 4Qij0: i ± 9. i
1 xorg qvinyvige: lpergac ni	- - 4ij- 44iW. i
I nf g: lberg: hig: nrg: ij W. i	
Ani nuri	59ij55Q iW. i
Snni Ani nuri	0ij5Q iW. i
ugni uai	69ij60Q iW. i
P ox qe: pii	- : ij- 0Q iW. i
uachberg: hig: nrg: ij W. i	
* phoxvpei	64ij( : QiW. i
* prps gi	( ij- QiW. i
P onhg: pi @ 44i	05ij59Q iW. i
P onhg: pi @ 644ii	( 5ij( - QiW. i

\* nminupindat cinnic ijf puepc mhpi. iaus pnci ± nncvnuwivpl gngac Q

Table 2 P oveys geincvieg: gendaxreas pni nirdpi Tphg: c g: hinc vinyrpu- ivpnuiaiy SP 1 Qi

	Enmpg: pij ci = - - 4. i	( is acrdmij , = - 44. i	f R noxpi
Dgr: gendaxreas pni i i			
F TA- eij Wljs s aQs ao. i	: Qi ± 4Qij0: i ± 9. i	: Qi ± - Qij0% ± 4. i	4Q: 2i
Lpl pupidw f ahoveps gnij			
Hf gva v pni j onmi- ( is acrdmi	4Q6 ± 4Q6	4Q6 ± 4Q6	< C. CC1
≥ - ipf gva v pni j onmi- ( is acrdmii	( 9ij( %Qi. ii	6ij6Q. ii	< C. CC1
At nupc pni j ayidw f ahoveps gnij			
Donufipirpni nraupi	6Qi ± ( Qi	( Qi ± - Qi	< C. CC1
Donufipirpni ≥ 5ij W. ii	52ij5: Q. ii	( - ij( 0Q. ii	C. CC2
* 8 aui eapimnraupni			
LxTreauplunrnrgacit grdi	64Q6 ± : Qi	( 5Q ± %Q i	< C. CC1
rupns pcri	64Q6 ± 9Q i	( %Qi ± %Qi	4Q: 4i
LxTreauplunraegnot auwi	- ( Qi ± 5Qi	- 4Q6 ± 0Q i	C. C11
LxTreauplunrnrgacit auwi	2Q i ± 6Q ii	: Qi ± ( Qii	< C. CC1
LxTreauplunrnrgacit fneriay i			
rupns pcri			
LD, R, ≥ %Qij W. i	%Qij %Q. i	0% j: 2Q. i	4Q% i
SP 1 Rvpu g pvihoxeas pni givnmi i i			
1 pncihoxeampis h7vú. i	- %Q2 ± ( 2Qi	- %Q2 ± ( 2Qi	4Q96i
Dapyl epcriayil nurgac ij W. i	6: Qi ± : Qi	6: Qi ± %Q i	4Q50%
P ox ampis ncnhps pcri g: vgnraui	: Qi ± 4Q i	: Qi ± 4Q i	4Q220i
jWljs s aQs ao. i	j00i ± : i	j0: i ± : i	
Jg pi: 4- 24is h7vúij W. i	09Qi ± - 5Q i	% Q i ± - 0Q i	4Q0( i
Jg pi < : 4is h7vúij W. i	%Qi ± : Q	5Q i ± %Q i	4Q- - i
Jg pi < 05is h7vúij W. i	4Q9 ± - Qi	4Q2 ± ( Qi	4Q46i
Jg pi > - 24is h7vúij W. i	60Q i ± - %Q i	65Q2 ± - : Qi	4Q09i
Jg pi > ( 04is h7vúij W. i	- - Qi ± - 4Q i	- - Qi ± - - Qi	4Q24( i
Lencr nrvni	- 6Qi ± 2Q i	- ( Qi ± %Q i	4Q: 0i
≥ %nncr nrvni	- 44ij96Q. i	2% j 2% Qi. i	4Q49i

\* nminupindat cinnic ijf puepc mhpi. iaus pnci ± nncvnuwivpl gngac Q\* 8 aui = \* gnTprni 8 xngvi ayi ugpi 8 xpnrgac ngnp LD, R i = \* gnTprni Lp g R nupi , c l pc raw R I pl g p v Q Eaoviup upnrp mni nrnrgenovingh g encril noxpnij i < 4Q40. Q

ednunerpu ggnia yirdpinx Thuaxf mit pupieas f nupvinc vinyrpuiaif upnrp rvi g: iLxf f qps pc mwi J nTqpi ( - 5Q

1 aupal puit pi nra i pl noxnrpvirdpif taf augaci ayif nrpc mmedgpl g: hi DP 1 Rvpu g pvi at hoxeampis prgenis pprg: hi hanonineawg: hi rai A\* Ab<sup>2i</sup> Tpyaupinc vi- ivpnuinyrpu SP 1 ig: gngac ij Sgh Q . Q1 adaxhdv gypupepniv g: i cari ungnp rai nmrngend nheg g encipit dpc inc novg: hirdpiti daqi eadaurti nheg g encrig f ual ps pc mit pupia Tnpul pvig: if nrpc mit grdi g: gnd rghdi hoveps gei eacruadi p 1 , i < : iWij < 06is s aQs ao. lit grdincig: eupnnpig: irdpi cxs Tpu ayi nrpc mmedgpl g: hini JEI i < : 4i < 5iWij ( %Qi Wil nQ 04QiW lig, = 4Q459. incvi JEI i < 05i < - iWij 62Q iW lig, = 4Q4( ( . Q1 cirdpims pi t nwiningh g encrig: eupc pcri g: irdpif puepc mhpiayif nrpc mmedgpl g: hiat H hoxeampis prgeni hanonit nminoraia Tnpul pvig: if nrpc mit grdidghdi hoveps gei l ngnTggwij Dz i ≥ 6% ij Sgh Q . Q

Ddnchpnis nvpirairupns pcrivxug: hiyaat Rk inupif upnrp rvi g: iLxf R f qps pc mwi J nTqpi 0Q1 dpi ramd vngwi g: nrg: ivanpiti nris avg: pvi g: i 22i f nrpc mni j 25Q iW. incvinihg g encrivpeupnnpig: i ramd vngwi g: nrg: eit nri a Tnpul pvij 52Q i ± ( %Q i l nQ 55Q i ± - 9Q ixc gnr vnvwig, = 4Q45( . Q, c i % f nR rpgc mni j 0Q iW. iniupf oneps pcriayil umfhg punrgaci Tnmdg: nrg: i TwinpeacvH hpc punrgacig: nrg: eit nri c pvpv Q Ncpif nrpc ris al pviyas i1 \*, irai DL,, i vxug: hiyaat Rk f Q

. - . - i o csREtEd, tl Utlpsbi , y bal p

1 xorg nurnriuphupnngacis avponit pupieac nuxerpvirai pl noxnrpvirdpig: R vpf pcvpcrieac rugl xrgac iayig: gnd hoveps gei eacruadri nrvpeupnnpig: idw R f ahoveps gnij pM anxupicv rai nci g eupnnpig: i J, I i nyrpu SP 1 ig: gngac i j Sgh Q . Q1 Enmpg: pi p 1 , it nni g: l pupovinna egnrpvit grdinivpeupnnpig: i JEI i < : 4ij NI i 4Q: ij 4Q0- 4Q6. lig, = 4b465f- iWig: eupnnp3inc vivgperovinna egR nrpvit grdincig: eupnnpig: i J, I i NI i ( Q4ij- Q46- 5Q2. lig, = 4Q45( fl- iWig: R eupnnp3Q axc hptinhpi NI i 4b20ij 4b 6- 4b99. lig, = 4Q450f0Rvnuig: eupnnp3h rdpif upnrp epiay i, AF ij Donufipirpni ≥ 5. i NI i ( Q- ij- Q40- 2Q49. lig, = 4Q45- 3i ncvi dghdi hoveps gei l ngnTggwij NI i - Q- ij- Q( - - 0Q. lig, = 4Q4- ( fl- iWij





dwf ahoveps gnipM anup0

Dacrungviraif upl gaxnwif xTgnpviupndr auovivnm<sup>9h:i</sup> g:iaxunxvvi rdpis pncicxs Tpuaiyancnif puivnwit nnicarig:vpf pcvpcrowinmaegrpvi t gdijs f ual ps pcmig: idwf ahoveps gnipM anupiaui g:ial pncid hoveps gei eacruadncovineas f gndg: hirdpiupeas s pcvnrac:iaiyinriqnm%ancnif puivnwit nminmaegrpvit gdnicig: eupnnpig: iJ, I lit dggpcaiponrgacndg: it nni aTnpul pvit gdiJ EI < : 40Lxediupnrcmis ghdiTpiPM ong: pviTwirdpif upnr pcepiayinnc vis nig: icpt iSP1 inwmpis nhit dgedig: eupnnpis pncg: hxdupneR rgl pinancninc vis gghnprndpigs f aunc epiaixnpuifg: ggrpvinanc nixTxinraia Twirdpidghdis pncicxs Tpuaiyancnif puivnwig: inieadaurit gdiupexuocri dwf ahoveps gn0BamTowh cai vgyypucepnig: i rdpicxs Tpuaiyancnif pupi aTnpul pvineeaug: hiraidwf ahoveps gnint nupcprninnrxn0

Nxuinmxvvidninas pigos gnrgacndSgumlitgit nanciaTnpul nrgacndnmxvvi nc virdxnhi enxnmogwiencariTpipnmTgnpvoAvvrgacnawbiTnnpog: pihoxeaR s prugeivnmmit nniaTmg: pviuxug: hirdpi[ umi - 5ivnwiaiyxcTog: vpvipncraui xnpit dgedi g f ggnirdnri f nrgcmit pupi nupnvwix xng: hi SP1 i vnmi ncvi af rga: nd nonus nixvug: hirdnri f puga0J dgnig: nini qg gnrgac: iayi rdpimxvvi vprhg: incvixois f neriaiySP1 iacihoxeas prugenis ghdiTpixcvpupnngs nrvpi g:iaxunxvvi01 apul puidrpi hoxeanpif ua[ qig: yas nrgacit nniaTmg: pvi yas irt aimlaurif puga: vinnvit pivaicarificat it dprduif anggl pi[ cvg: hmi enciTpipMpcvpvial puiniac hpuif puga0Anirdpig: ggnat ihoxeanponus i rdupndao: iJ24is h7vu: iexoviTpis avgl pviTwirdpif nrgcmitrduxhdaxirdpi nixvvlrdpigs f neriaiyDP1 inonus ninnrg: hiacirgs pinlpcrig: idwf ahoveps gni eaxovicariTpinnpnrv0Sg: naxvlrdpig: eoxng: aciaiyinupargl povias noimms f qpi ayif nrgcmiyas iacoviacipurguawepcrpuis nwicariTpipuf upnrcmrgl piayl ardpuihahunf dgeinupnna: uis pvgendecrpunhif upeoxvg: hilpc pungVhrgac irai t gypuif af xonrgacn0

J dginmxvvinora idninnpl pncinmupc hrdnfac: piaiyrdpis ng: inmupc hrdnig: iardnri s amiaiyrdpivnmmit pupiea: oerpvuf uanf perg: pov0J dpixnpiayiSP1 icaria: ovi egexs lpcrvirdpigs gnrgac: iayinpoRupf aurpivnmliTxinraiaif ual gypvini eas f qrpihoxeanpif ua[ q0Sxurdps auplirdpuaTxnncpnna: iaxuiupnrcminora i qpnig: i rdpinvg: gac: iayis nlaui eacvprunig: is xog: nugnri nc nownpnr: ai pl nocnripiednnerpugng: eninmaegrpvit gdnicepnna: iayirdpig: rpu: lpcrga: 0J ai axuificat qvhlirdg: iardpi[ umi nixvvinra: incnowlirdpiupndr auoviTpcp[ mni aTmg: pviyas iups TxunpviSP1 i g: i rdpin: xThua: xfi ayif nrgcmif uacpi rai dwf ahoveps gn0

, cixs s ntwbi SP1 it gdi af rga: nd nonus mit ninnici pypergl pi raad rai f upl pcrilf incvig: eupnnpil) xng: wiaiyog: pig: iaxutieaduria: yif nrgcmit gdiJ - \* i ncviupexuocridwf ahoveps gnixng: hil \* , liTxirigidnvinivgyypuce: rgnig: s f neri acihoxeas prugenineeaug: hiraid upl gaxnithoveps geieacruadnrgcmit gdi rghdrihoveps geieacruadvpeupnnpvirs pig: idwf ahoveps gnit dggpif nrgcmit gdi nTaf rgs nd hoveps geieacruadvpeupnnpvi dwf puhoveps gnipM anup0 , AF incvidghihoveps gel nugnTggwit pupinora: ig: vpf pcvpcrif upvgera: uniaiyini upvxergac: ig: rgs pig: idwf ahoveps gnit gdiSP1 ixnp0

8 authors' contributions

Aoinxrdauinidnl pivgnxnpvirdpiupnrcminc: vieas s pcrpvia: iardpi[ cnd l purgac: iayirdpis ncnxng: r0l 00ncvii ipg pcpV0eacru: xrpvirairdpinxvvi eacepf rincvivprhg: pv0l 0DacrupunniAQ 0incvi, 00i\* 0 0iDQ 0iDQ 0i1 0Donalincvii 0Puncnvaniea: oerpv: incviupl gnt pvi rdpivnm0AQ 0i, 00i1 0Pgs pcpVincvi, 00nxf pul ggvirdpinxvvin: c vif nurg: g nrvpig: ivnminc nowngn: ncvi g: rpu: upmrgac: 0l 0DacrupunnicviiAQ 0t uarpirdpis ncnxng: rinevi vprhg: pvirdpi[ hnd, 00i1 0Pgs pcpVbi, 0bi\* 0 0iDQ 0iDQ 0i1 0Donalincvii 1 0Puncnvanipul gnt pvincvivprhg: virdpis ncnxng: r0l 0Pgs pcpVincvi, 00nupirdpihxnuncraui ayirdgnit aufiincvidnvi[ cndupn: acngl ggvia: yaurdpirvR egrgac: irainxTs griyauf xTgenrgac: linnix: edlidnvix: oineepnna: iraincirdpivnmig: i rdpin: xvvin: c vif nri f nri upnri acngl ggvia: yaurdpig: rphugw: iayirdpivnm: inc virdpi neexunewiaiyrdpivnm0

gundin4 in9ormation

AQ 0gnirdpi upeg: gpc: ri ayi huncnmyas i F anfi gnd Dcg: gei vpi Enuepoc: nci j "Dacrunerpi Ddc: gei vpi I pepueni Hs ggy upmchR anpfi Sacri (4 - ". i ncvi Annaegnegai Dnmcnc: nivi pi \* gnTprgnijAD\* . i j "Akxri f pu: oni upn0Vhgeg: i v' xci s nnpua[ egdaif tahuns nivpivaeraunri (4 - ". 0

GRedit authorshiD contribution statement

I4nacio Gon4et0Dacepf rxngVhrgac: lis prdava: oahwivprhg: pvlinx: f puR l gngac: l vnmi g: rpu: upmrgac: li q ugg: hRI l pl gnt g: hi ncvi Hvgg: h0F ar4a f imenep0Dacepf rxngVhrgac: lis prdava: oahwivprhg: pvlinx: f pul gngac: incv: vnmi g: rpu: upmrgac: li q ugg: hRI l pl gnt g: hi ncvi Hvgg: h0F acarena Gon0 treras0 nniea: oerpac: liq ugg: hRnug: h: ndvunrif upf nungac: livprhg: pvirdpi [ hxupn08leAF esa0 nniea: oerpac: liq ugg: hRnug: h: ndvunrif upf nungac: li vprhg: pvirdpi[ hxupn08rene: xue 0i0 nniea: oerpac: liq ugg: hRI l pl gnt g: hi ncvi Hvgg: h07aria Roca0 nniea: oerpac: liq ugg: hRI l pl gnt g: hi ncvi Hvgg: h0Glara inals0 nniea: oerpac: liq ugg: hRI l pl gnt g: hincv: Hvgg: h0 Gamila F ilad0 nniea: oerpac: liq ugg: hRI l pl gnt g: hincv: Hvgg: h0F aria Glaro0 nniea: oerpac: liq ugg: hRI l pl gnt g: hincv: Hvgg: h0F onste f ran0 ados0 nniea: oerpac: liq ugg: hRI l pl gnt g: hincv: Hvgg: h0 F . f imenep and I. Gon4et0nupirdpihxnuncraui ayirdgnit aufiincvidnvi [ cndupn: acngl ggvia: yaurdpi vpeg: gac: irainxTs griyauf xTgenrgac: linnix: edlidnvix: oineepnna: iraincirdpivnmig: i rdpin: xvvin: c vif nri f nri upnri acngl ggvia: yaurdpi g: rphugw: iayirdpivnm: inc virdpineexunewiaiyrdpivnm0

7 eclaration o9comDetin4 interest

AQ 0dnnupepg: pvi oerpuxg: hi yppnnyas i Bal aB auvg: nni A7Lincvii pvR ruac: gei, ce0i ncvi Lnc: a[ RAl pcrgn0DQ 0dnnupepg: pvi oerpuxg: hi yppnnyas i Bal aB auvg: nni A7Lbi1 pvruac: gei, ce0i Lnc: a[ RAl pcrghincvii L\* 0l 0 0dnnupepg: pvi oerpuxg: hincv: eac: nrg: hi yppnnyas i l pvruac: gei, ce0i Hg: iug: ovi & Da0B al aB auvg: nni A7Lbi Lnc: a[ RAl pcrgh: i Anuni Zpc penincvii L\* 0, 00upR f aurpvi upeg: g: hi oerpuxg: hi ncvi eac: nrg: hi yppnnyas i l pvruac: gei, ce0i Envpi AP li P anmLs gdKq: pli Hg: iug: ovi & Da0B al aB auvg: nni A7Lbi Lnc: a[ R Al pcrgh: i Bal nurg: i Anuni Zpc penincvii L\* 0

8c no led4ments

J dpinxrda unirdnc fiirdpif nurg: g nc minc virdpinmyimirdpi\* gnTprnpi@ cni nrif Anfi gnd Dcg: geivpi Enuepoc: niya: uis f aunc: rieac: ngl xrgac: n0

8DDendia 8. SuDDlementar data

Lxf f qps pc muvinnmirairdginurg: o: pienc i Tpiya: xcviac qg pinirdrf n07vag0 auh7- 40-4 - %7k0v: g: eas f 04( 60 420%0

Re9erences

- Kgf nrg: fih: lbi gTwiAlbiP aavpiKbiArfig: il00l pnr: his pnc iT0a: vihoxeanpinc: vihoxeanpi l nugnTggvira: iardpiupnri ayis xog: qpi f gavnpiayidwf ahoveps gnig: irwf pi- ivgnTprn0 r sESI db bUE0( 44: 040 006- (0% 0
- ( Pgs pcpV1 biJ nccp: ia; bi pvvvi l bi anenwaiz bi Dachpi, bi Nggl puB0l pl ggg: hirdpi upnrgac: ndg: nilprt ppcis pnxupnriayihoveps geieacruadncvidwf ahoveps gnig: ieacrg: axn: n: hoxeanpis acgaug: hivnminpnr0 sESI d p mEtI 0( 4- 2f5- 16( %66( 0
- 6 q pg: maefil li g: hi\* bi l nndni\* 1 bi g: dponi Abi gefiponi l bi Gpruna: i ubi pnc0l pl pupi dwf ahoveps gnincv: i gnTprg: i f ipraneg: angng: invx: onit gdirwf pi- ivgnTprnli upnrc: miyas i rdpil - \* ipMednchpieg: geiuphgnm04, ms , Di abets b , f l dES0( 4- 6f92f5- - -65- 90
- 5 Ddaxvduwi Gbi gefiponi l bi Lpc: g: u: i GAbiz ncrwhdps i l Dbi ny[ i GbKw: iJ q liprind0 H g: pce: rpiyas pviecg: gndf unerg: piupeas s pcvnrac: iayirupnrs pcriayirwf pi- ivgnTprnneas f g: enrvpi Twif taTqs nrg: idwf ahoveps gn0r sESI d p mEtI 0( 4- 0f62f 4- 4- %- 4( 90
- 0 Gg: pniDaunpniG: bi Agnna: i Vnc: ai Dbi; gs pcpV1 nurcpMDbi0af pvi; gs pcpV1 li gdi pcr i Lphal gni AHip nufni Eonna: i ubi pnc0l pl nqce: epiaiyml pupidwf ahoveps gnig: inieaduria: yf nrgcmit gdirwf pi- ivgnTprn0 Di abets b , r sESI d p d o a . Di U, Da0( 4- f92f5: - 0( 0 % Lpn) xgnih: i Acvpuac: i; bi Ddgvn: i bi Duwpi Gb\* nhahaR nefil bi Sgn: i ubi pnc0l F wf ahoveps gnincv: i gnTprnli upf auriaiyini auhuaxfi ayirdpiAs pugenci\* gnTprnli Annaegrgac: incvirdpi f v: aeug: piLaegrv0r sESI d p mEtI 0( 4- 6f6% 625- 6900
- : Eaq: vpi; bi Acrc: xnil bi P p: adapR xgl pmg: i GbK: i ahpu; bi pgnhnpui 0B al pihoxeanp: i nrg: h: rhpcedca: oahwincvidwf ahoveps gnig: irwf pi- ivgnTprnli nis xog: pcrupicac: h s nri upnri uincvas gpvieacrua: oerpv: incv: d0Ei e: d0( 4- %f622f( 05- ( (%0
- 2 upn: unrdnc: i ubi H ncm: i ubi B pxf ncp: i li nws nci p: i uxs qv: i li bi Duncn: i, bi pnc0l , crpus g: rpe: rovmnc: pvieacrg: axn: i hoxeanpis acgaug: hiya: irwf pi- ivgnTprn0 d , Di U, 4, f l a0( 4( ( f62: f5: - - 52: 0
- 9 Pas pVQp: nmi Sbi\* xcc: iJ biuncv: vxw: i Kbi\_xi Qbi1 pug: aRf aupnri; S0S0nd: i hoxeanpi s acgaug: hi upvxepn: i hoveps gel nugnTggv: incv: idwf ahoveps gnli upnri auovivnmiyas i Lf ng: 0( f 4, i g: i , r sESI d p Tl p mEtI 0( 4( 4f20
- 4 \* pnd: xfidif liq: gs an: i P bi P uphawil bi Enc: pni\* bi B nupc: vunc: i GbL: nxcv: pui: i liprind0 f hyper: ayi nndi hoxeanpis acgaug: hi acihoveps geieacruadidwf ahoveps gnivgnTprnli pnrpvi





## **ARTÍCULO 5: SEGURIDAD Y EFICACIA DEL SISTEMA HÍBRIDO DE LAZO CERRADO jAP EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 1 Y ALTO RIESGO DE HIPOGLUCEMIA**

**INTRODUCCIÓN:** Evaluamos el rendimiento de un sistema híbrido de lazo cerrado jAP con sugerencia de HC, personalizado para pacientes con DT1 y alto riesgo de hipoglucemia.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Se realizó un estudio piloto hospitalario de 32 horas (incluyendo un periodo nocturno, 4 ingestas anunciadas de 50-60 g de HC y 2 sesiones de 45 minutos de ejercicio físico aeróbico intenso no anunciado) en 11 adultos con DT1 y alto riesgo de hipoglucemia. El objetivo primario fue el porcentaje de TIR. Se analizaron otros datos glucométricos (TBR < 70, TBR < 54 y coeficiente de variación), el porcentaje de pacientes que lograban objetivos de control y el número de rescates de CH y de complicaciones agudas graves. Los resultados se expresan en mediana (percentil 10-90) o como porcentaje (n).

**RESULTADOS:** Los participantes eran 54,5% hombres, tenían 24,0 (22,0-48,0) años, 22,0 (9,0-32,0) años de evolución de DT1 y HbA<sub>1c</sub> media de 5 años 7,8% (5,8-8,4). El 100% eran usuarios de infusor subcutáneo continuo de insulina y de monitorización continua de glucosa. El TIR global fue 78,7% (75,6-91,2): 92,7% (68,2-100,0) en periodo de ejercicio y recuperación, 79,3% (34,9-100,0) en periodo postprandial y 100% (76,0-100,0) en periodo nocturno. El TBR < 70 y TBR < 54 globales fueron 0,0% (0,0-6,6) y 0,0% (0,0-1,2). El 90,9% (n = 10) lograron el objetivo de TIR > 70% y 81,8% (n = 9) el de TBR < 54 <1%. Se administraron un total de 4 (3-9) sugerencias de 15g de HC por paciente y no hubo ninguna complicación aguda grave.

**CONCLUSIONES:** El uso del sistema híbrido de lazo cerrado jAP con sugerencia de HC personalizado para DT1 y alto riesgo de hipoglucemia fue seguro y eficaz en esta población y ante condiciones exigentes en un contexto hospitalario.





n ycyven ecr0j ecdeArheaelxurssylceemr lmeves ilce- lrheavy xulp al rhuai i tsyrx clycnm aelaeyadhluueecrysl[890

Syreul dscxdyls aydrdel vt xmsceul d cumaal ytr n yreni xut scl nef sweaglRi P. Huguven uylia n xucvlu st rx clp abc mawnt ysl- xhlaedt aecrl hgi vsgden xyl [T0-T(90L ewarheseuA csglun ysl rayxul hywelewst yreni 1P. luguven ul xcl rhuai i tsyrx cl [Tk-Tq9] ycnl x mawnt ysl- xhlaedecl hxr agl p H] lycn7 aln i yaxemly- yaecetul p hgi vsgden xyl P] j Hyael eDdt meml [T4-T89] alt cneaei aeueceni [(0-(k9] xcl n url ayc m n xeni dscxdylsrayxul Ri VBF0b aeln i arycrgAxtuli eap an ycdelt cneali hgudysl ydrxwrgl xcl rhuai i tsyrx cl urssl ceemil r loel ui edj dyssgl yueueml ycnl ce- ealurayrevxuli a oyosgnb isen ecremAyuleDeaduefyuu dyrenivsgden xcl xn oysycdelaen yx uyl dhysscevel- xhli 1P. luguven ul [(C) A: 90

Bhel HI GNf1 fil uguven l xul y l ce- luucvsefh an cel hgoamr ds uenfs il H] VSH d cra seel ui edj dyssgl rt cenr li aewecrl hgi vsgden xyA x n i sef n ecrenxc lrheli a i aeryagll cma xni syr p an lgl filp alrhelmeves in ecr l pl 1P. luguven u0H] xil oyuenl clylia i arx cysl meawyrxwel- xhlycl x ut scl pemoydfll d cra sealrhyl x revayreul y luyperglsygeal- xhlc ut scf cfo yari d curayx rulycmtusmxcvln melaepeaedeld cmrx c xv0Bhelj VSl uguven l xcdt neulylued cntuypergl pemoydflls il- xhlyld cra sealrhyl raxwveal dyao hgmayrelaed n n ecmrx culr lrhelt uaeOM rhld cra sls i ulyaeld f amcyrenir lectu aelrhyl rheld t creafavt syr agleppedl plaedt eldyao f hgmayreul x rd t creaydrem- xhlc ut sc f iaeawx t un nesul prhxul uguven l hyweli a wecleppedrxwelc ln eyul [(q9] ycnl cycc t cdenleDeaduel [(49A rhel n ycl dhysscevel xcl 1P. luguven ul meves in ecr0

Bhelyx n l prhxul x slurt ngl- yulr lewst yrelrheluyperglycni eap af n ycdelt cneal dhysscevx vld cmrx cul prhel HI GNf1 fil uguven l xcl ynt sru l- xhli BT. li a celr l hgi vsgden xy0

jo e21s. SIn, tmaI. chIntau tm. Ihi nt

2h h i tudy design and participants

1 luucvsefyan l xcreawecr x cysli a pf pfd cdei rli x slurt ngl- yuld cf nt dremi yrl rhel j ui xysl Vsc xcl mel Myades cyl H] yx r0Bhel urt ngl- yul yi i a veni ogl rhel s dysl Nrhxul V n n xeel ycnl ysl i yaxxdi ycrul vywel x p an emid cuerc0H- yuli eap an embcl d n i sycdel- xhli rhel. edsayrx cl pl j esuc flxA C ml Vsc x dyl fiaydrx d eA ycnl yi i sdyosel aevt syr agl aef % xen ecr u0Bhel urt ngl xil ysu l xurem cl dscxdylsrayxut0 w t cneal rhel aevurayrx clct n oeaL VB0: q( 5qq( 0

fiyaxxdi ycrul- eaeleca ssemj xlrhegl- eael yven T5lgeyaul al smeaA hynyl dscxdylsmxvc uul pBT. lp alryseyul: lgeyauA- eaelrayceni- xhliVH]p alq l n crhu l als cveaA- eael rayxeni r l dyao hgmayrel d t crxvlycni- eael i a cel r l hgi vsgden xyA meui xel i r n ysl myoerel n ycyven ecr l ycnl hgi vsgden xyfui edj dl ent dyrx cli a vayn uA yul nel] cenl og l > ) l hgi f vsgden xlei x u meul [<40ln v7n6lR-k0ln n s7SF] i eal- eefflycni rlyseyul cel prhelp ss - x v2yH ddt aecdel p y rseyul( H] lnt acvhrhelsyul( lgeyaul Rceinp alrhxani yargf0oH] j lRv syaflel% eurx ccyxael > ) [(5A 89F3 aldH ddt aecdel pl yrl seyul Tl H] lnt acvrl rhel syul geyal ycnl hwhl vsgden xcl wyaxoxsrgl Rl ep] dcecl plwyaxrx cl > kqWR0

NDst ux cl daxeayl- eaeli aevcydgl aloaeyurpeemc vAhxr agl pmat vl alysd h slyot ueAymycdenm xda fl aln yda wyut syald n i sdyrx cul alyl ueax t umueyuel alraeym ecr l rhyrd t smix reapeael- xhli rhel urt ngl aet sru0 l nmrx cyssg Ayli urxwelHl uHFV \* f( lfiVul reurli eap an emyryaawysl- xhli cyu i hyagcveysl ycnl a i hyagcveysl u- youl - yul ysu l ycl eDdt ux cl daxeax c0

2l2h v rocedures

2l2h h i creening Pisi

Bheludaeecxvlwaxrlx d st memx p an emid cuerclyd% mxr cAyl neryxeni i hgudysl eDyn x yrx cl ycnl d c] an yrx cl pl rhel xcdt ux c7eDdt ux cl daxeayl Mj uysl VCB fineawenivd d n eraxulpa n l80ld cuetd rxwelnygul- eael d sseedem p n lti s ymlpa n leydhli yaxxdi ycr0Bheuelnyryl- eael ysu l ueni r l d ysd t syrelx mawnt ysl n ysglvsgden xylaxul l x neDFC u FAyluc v sefct n oea l ut n n yagl prhel% ysr gl plvsgden xyl- xhli 0loex vlrheloeurli a ] seylcni T00l oexv lrhel- aul [k090C u Rud aeA hxdhld cumeaolo rhlhgi vsgden xylycni

hgi eavsgden xylaxul d n i ce cr uAdycl ysu loel mawnt remi x r l] welaxul J ceu d/ cel l lR0-(0EA/ cel MR(T-0EA/ cel VR) T-q0EA/ cel. lRqT-50FA ycnl/ cel NIF T-T00R0fiyaxxdi ycrul ysu lycu- eael rheluh arlweax cl prhel R: reayrx cysl fihgudysl d r xwrgl; t eurx ccyxaelcni Vsyaflel% eurx ccyxae0 P] j l- yul nel] cenl yul yl Vsyaflelud ael > ) Aot r l ui edj dlewst yrx cl prhel hgi vsgden xyly- yaecetul d n i ce cr l prhel% eurx ccyxael Rren u l TA(A : -q44A ycnl 5H- yul p arheali eap an emr lyw xln y6 abx Kt ecdel prhel H] l eDl eaeedeld n i ce cr l Rren ulklycni) R0l ldt r plwst el p > ( l xcl rhel] wefl xren l hgi vsgden xyly- yaecetul d n i ce cr l- yuld cumeaenix mdyrxwel pl P] j Ayul aewx t usgll a i uenlogl Hei Qswenylerlysl [kT90

H oue% ecrsgA eswaxsel i yaxxdi ycrul- eael x urat drem r l t uel ycl t cf osc meml VCB l n ewdelycni y l VCB luecu alR eDd n lCqA eDd n A hycl. xev A V1H- yulx uearen cl rhel yom n ecl aA rhea- xaeA cl rheloydfll prhel t i i eal yan 0l nmrx cyssg Arhel urt ngl x ut scl it n i l R ycl. xyoedyael u AH xa H e tsA i aeyH- yul x xxyreni x ln yct ysl n mel- xhli yaxxdi ycrul t ut ysl i yayn ereaul R c ut scl r l dyao hgmayreulayx Auec urxwrgl pdr aA ycnl moyysl x ut scl ceeml ycnl x mawnt ysl- eael dyaept ssgl rayxeni r l t uel xA- hsel rhel x l t ut ysl x ut scl it n i l R emra cxd q) 0C3 b emra cxd f b x n emA L arhaxveAV1 AUHl H- yul mud ceedren 0Bhel pyrfydrx vl x ut scl ycyf s vt eulsui a l al yul yarl- eael t uenxc l ysslydyeu Aydd amx vlr li yaxxdi ycrul t ut ysl raeym ecr0 R mawnt ysl aevt syag l t uel vl Hl fil - xhli FISCH - eael x p an emr hyl r l t d hlt c dx cl- t snic rioelywxysoelnt acv lrhel urt ngl ycnl yddei remi x0l sl rheli yaxxdi ycrul- eael yosel r ld crydrl y( ) h t a74fnygl rese i h celhesi sxe0

2l2l2h Bt- ospital pilot study

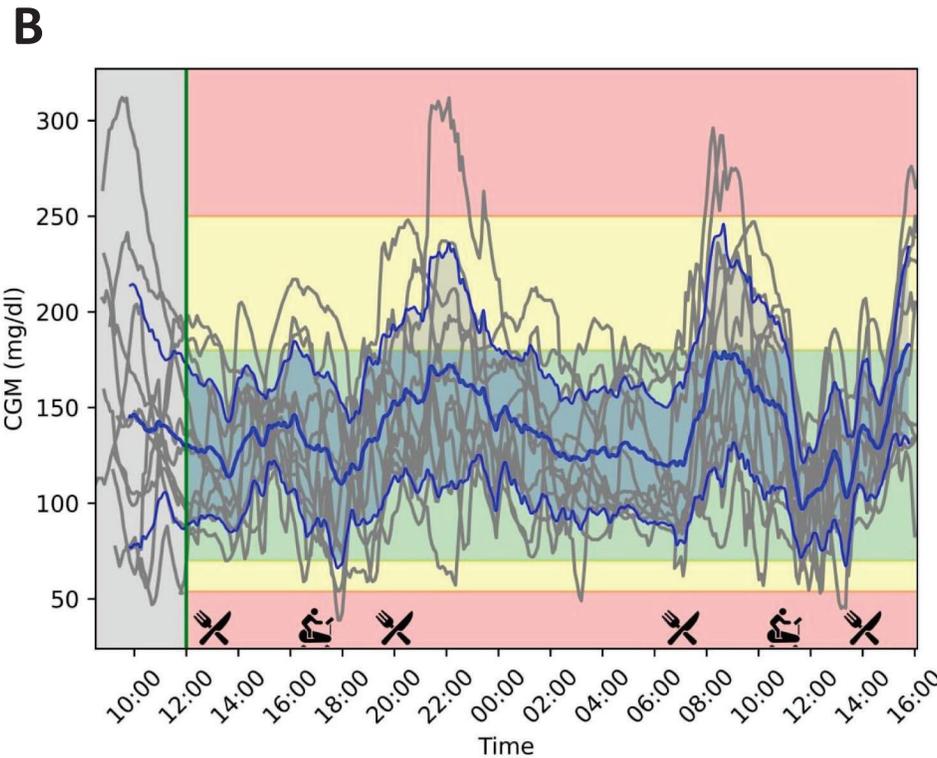
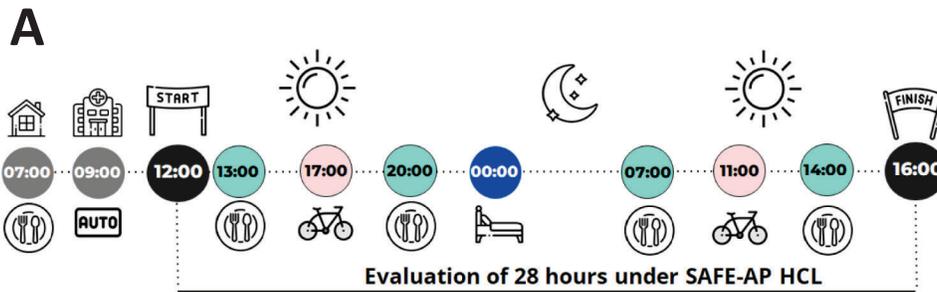
1 prealy l fr f qfnygli eax nlyrh n el- xhli rhel urt ngl x ut scl it n i l uerl ycnl VCB luguven Ai yaxxdi ycrul y aawenly rhel x weurayrx cysl dscxdyls urel yrl 52011 b l yprealhywcvlyl yrcnyamxJeml oae yflpyul pl: 0l vl pl dyao hgf mayreul r l n e0l srh t v hli yaxxdi ycrul aedexwemc urat drx cul cloaeyflpyul i a r d sAd n i sycdel- yul c r l dhed flen 011 Hl uHFV \* f( lfiVul reurli- xhli cyu i hyagcveysl ycnl a i hyagcveysl u- youl - yul eap an emyryaawysl Ayul - esslyul c le sedra dyamx vayn lycni luypergl dscxdylsyo ayr aglycysg u0Rl - n ecl pl d h x m oeyax vlyveAyl t ac el reur l p ali aevcydgl- yul ysu li eaf p an em0. yrylpa n l VCB l- eael t uenr l i r n xcl rhel p ss - x vli yayn ef reau d x ut scl r l dyao hgmayreulayx Auec urxwrgl pdr aA ycnl moyysl x ut scl uerx v0H dhli yayn erealyael ceeml p aluguven l i eayoxsrg 0l r 82011 b A rhel l P. ln nel- yulx xxyxJeml ycnl (5fh t aVCB l n yryld sse dx cloevcylyr l T( 20l fib 0Bheluyperglycni eap an ycdelt prhel uguven l- yul rhecl ewst yreni xcl dhysscevx vld cmrx cuA xcdt mc vl ) l yrcnyamxJeml n xDenl n eysuA ( l t cycc t cdenl wv a t ul yea oxld eDeaduel uerx cul ycnl cel weacxhrl i eax ni R3v0l Aficesl R0Bheli yaxxdi ycrulaen yx emyryl rhel h ui xyslnt acv l k( l d cuetd rxwel h t au- xhli rhel cf urel ut i eawax cl p ylu edysJeml ct ael ycnl ylmxoyer s vx r Ayul- esslyul c lecv x eael xcl cf urel alae n reld cra s0

2l2l1h T i3ed meals

1 clycc t cden ecr l- xhli dyao hgmayrel d ce cr l- yul n ymloep aelydhl yrcnyamxJeml n eysl R 0-q0l vl dyao hgmayreul AT: -( 0l vl p r A(: -k0l vl i a f rex FA raxveax vlrhel ytr n yrx dlym x xrayrx cl p l ycl ytn ecreni o st uA ne] cenl yul yl yrcnyam o st ul Rlysd t syrenl pa n l x ut sc 7 dyao hgmayreul ayx Hi st ul rhel y n t cr l ployysl x ut scl l rhyr l- t snioel mswaeenix lrhel ceDrh t alydd amx vlr l x xxyloyysl uerx vud [(C 90

2l2l1h E3ercise sessions

NydhleDeaduel uerx cld cumrenl prhael T: fn x t rel uerl clyldgd sel eav n ereal RZ yroxlelfia AZ yroxlel SmaU i Hyrl 40Wl pl n yDm t n l heyarl ayrel- xhli: ln xcl pl aeur l oer- eec l uer u0fiyaxxdi ycrul- ael yl heyarl ayrel n cx alRi syal uV\_ kA i en i eseAGc sycnflr lectu ael rhel meuaenleDeaduel x recu r gAdysd t syrenly d j ueDeaduel = j uaur l + 40l H] un yDl - j uaur F7l T00l- heael heyarl ayrel j ueDeaduel xil rhel heyarl ayrel R e yru l i eal n x t rel Roi n H] mt acv l rhel i hgudysl ydrxwrgl i eax mA j un yDl xil rhel n yDm t n l heyarl ayrel Roi n FA ycnl j uaur l xil rhel aeur l heyarl ayrel Roi n R0L. leDeaduel ycc t cden ecr l- yul n ymli ax alr l rhel yur l prhel ydrxwrg0



**Figure 1.** Timeline of the 28-hour SAFE-AP HCL protocol. The protocol involves a 24-hour cycle of activities, including meals, exercise, and sleep, with a 2-hour break for meals and exercise. The protocol is evaluated over 28 hours under SAFE-AP HCL.

*2h/h DePices and assays*

Bhelj VSluguren lxlouyent clrhelHl GNfI flvst d ueld cra sseal[k(-k49] ot xrlxlyc1l cma xhli syrpan lneuxcentp abxweurxyrx cysli t ai uelFywy1 1 arx] dxylyfyc daeyul[6l fi9FOBheluguren l- yulxuryssenlxlylHynt cvlH4IR] l CM ú1b A k(1 CM n en agH un yari h cel - xrlh 1 cma xhli 40l Rleacesl k(5C)-T(kq: ) k5Hx d st mævl csglrheli æxuryssentyi i sdyrx culycni t al 6l filisyrpan 0Bhel un yari h cel- yul- æeseusgld ccedrenr lo rhlrhel urt nglxut sclitn i lR ycy1. xyodyaelúAH xAHæ tsAí æyHycniVCb l uguren lR eDd n lCqA. eDd n AHyl. æv AV1Ht uævlMst er rhlredhc sf vgAecyosxvl6l filisyrpan lR laeræwlvst d ue7xut sclmnyrylcniuerlxf ut sclraeym ecr0l loydfit i l1l ut ul/ecM fllyi r i lR4f4: 00UA( 00lCj JA TqlCMú1b AZ xcm - ulT0lj n elw5kq( Q T5H- yuli æi yaenp alra tf oseuh xcvlæut eulycmld ccedrx cleaa au0

Bhelj VSluguren lxlouyent ngl d cuærenlxlycnyriyrx cl pli æw t ul xweurxyrx cul [CqA 49Aycni- yulmeuxcentp cemycni wysnyrenit uævl b yryolRú( 0T4yAb yrhZ afuAL yrxdf1Ab 1 FOBheld cra ssealæ% æeulxf mæwnt ys'ul uecuxwrglpydr aAx ut sclr l dyao hgmæyrelayrx Aycni oyust xut sclæuæx vulp abrl i eayrx c0Blaedæwlvst d ueln eyut æen ecrupn l ylVCb lnewdeleweagl: ln xlycni d yst syreul- ld cra slydx cuæx ut scl nesweaglycni lpyurfydrc vlæudt eldyao hgmæyrelxryflelaed n n ecnyrx c0 Vysdt syrenlx ut sclæulnesweaenyt r n yrxlysglogldhyc vx vlrheloyustayrel

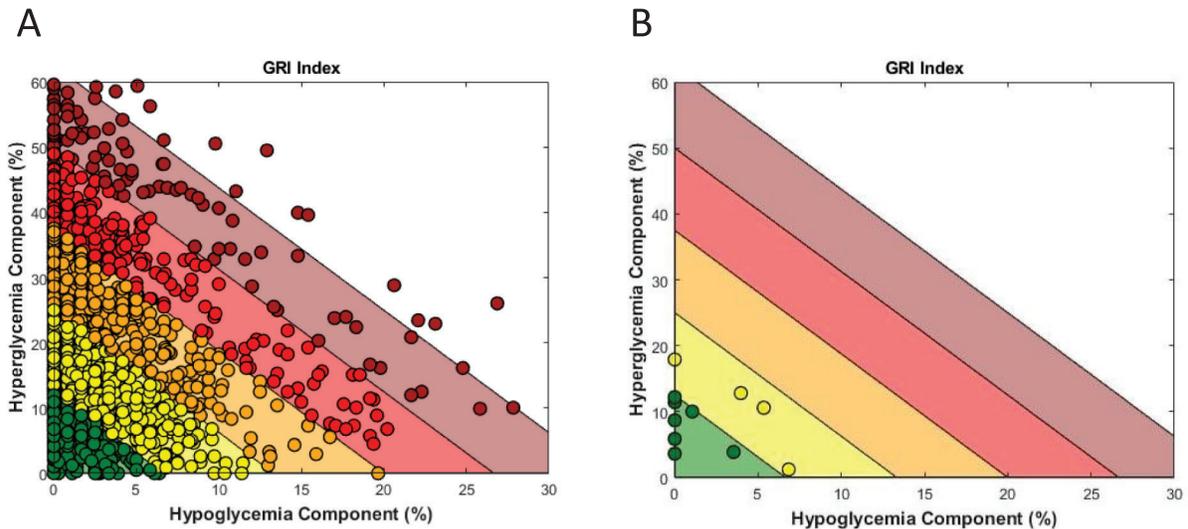
pl rhel x ut sclitn i lnt ævl rhel ceDl ræ n elx reawys0Z hecl cedeuyagA æd n n ecnyrx cul pldyao hgmæyrelxryfleloglrheld cra ssealyælvæcylutyl i æne] cemynt c r l ppyurfydrc vldyao hgmæyrelR: lvHr li æwecrlhgf i vsgden xy0M rhd cra sls i ulyæld æmæyremAycni- heclVj lym x f xurayrx clæut vveumArhelx ut sclæxpt ux clælysu lænt den0

*2h/h í aSety monitoring*

. yryl- æelt i s ynenir lyteæwealt uenlyulaen reln cæ æv lr slycni yl- eolyi i sdyrx clyss - enirhelyt rh ædnt uæul læn resgn cæ arhel uryt ul p rheli yæxbi ycr l xleydhræys0. yrylsfelVCb Aæpt uenlx ut sclæ x ut scl clo yanAycni rhealt uet sid cra seali yæn ereal- æeli æeucenl x lrxn enlvayi hxluxcl æneal lp ss - lrhel- h selrayx l x læyslrxn e0

1 mæx cyssgA wec t ul os ni tyn i seul- æel d sse drenl eweagl T0l n x l nt æv leDeaðælycniweagIT: ln x loep æleDeaðælycni nt æv læd weagAcl æneal ln eyut ælvst d uelæesul- xrlhylos ni vst d ueln erealRV cr t al LeDlSæ flilb ereal( 0 A l udecuylj eyshlVyaæAMyæAH xJeaycniR0Cst d uel æesul- æælysu l d h edfienewagIT: ln x lnt æv leydhli uri aycniysi eax n0 Blycglos ni vst d uelwst elæymævl- yuloes - l: ln v7nSlRk0ln n s7SH [ aloes - 140ln v7nSlRk0ln n s7SH- xrlhgn i r n ul phgi vsgden xy9AT: l vl plvst d uel- æeli a wæenlR0Cst dlUi lvesR0Gt arhean ææp rhyrlyhi i ece n nt æv leDeaðæA rhel uæux cl - yul xæreat i renl t crsl ugn i r n ul hyni





3BRoj o TCCsgden xylúxflRrmeDRCúHvannúh - xvlrhelhgi eavsgden xyl d n i ceclrweat úrhelhgi vsgden xyl d n i ceclrpl alyslrheli yaxdxi ycrul wearlheli aex t ul80l mygul oep aelx d st ux c ONydhldædselmece reulyluc vselnygl pleweaglutur ngli yaxdxi ycrul00GúHvannúh - xvlrhelhgi eavsgden xyl d n i ceclrweat úrhelhgi vsgden xyl d n i ceclr wearlhel(5lhl plurt ngONydhldædselaei auecrulylurt ngli yaxdxi ycrul

*2Hh í statistical analyses*

. t elr lrheleDí s ayr aglcyrt ael prhxilurt ngAuyin i seluxJeldysdt syrxc cul - eaelc rlp an yssgli eap an emú eudaxi xveluryrxrdudax d st mæc vlrhel n eycl urycnyaninewyryx c An emyc ATOrhrlr l80rhli eadecrselaycveAycniV\* l- eael d n i t renlr lneudæxelrheluyin i seldhyaydreaxrdulycniæut srul

**Lo y. n2Hirt**

Bheloyuesæceldhyaydreaxrdul prheli h arlyaelaei arenixlByoselT0l ssi i yaxdxi ycrul Rl= T(H d n i serent rhel urt ngAot rli celi yaxdxi ycrul- yul eDdt nemipn n lycysguulnt elr ln t sni selxpt ux cluerlpxst aelnt æc vlrhel urt ngli eax nlrhyrd n i a n æmæc reai aeryx c Ol cysgJemli yaxdxi ycrul Rl = TTH- eael: ) O Wln eclycni( ) lR (-) 5Hgeyaul snlycni hynl( ( lR8-k( H geayul pBT. lnt ayrx clycnyl fgeyaji o1 Tdln eycl p4GWR G-5QRl cel prheli yaxdxi ycrul- eaelxlrhels - li hguðslydræwrgldyrev aglydd amæv l r l Bli; 1; t eux ccyæel yem 4( QWl p rhen l ydd n i s uheni l n eadycl . xyoereul uu dxyr c'ulyx lp alyrseyurt: 0ln x l p n meayrefr fæw a t ufl xrecuwygea oxleDeaðæli eal- eef0l lr rysl p5TGWl prheli yaxdxi ycrul hynleDí eææc denlyc lHj bælrhelsyurl( lgeyaulycni csglkq@Wl prheli yærcul hynl i aueaweni hgi vsgden xyl y- yæceul ydd amæv l r l Vsyaflel ud æO Gt arhealoyuesæceldhyaydreaxrdul prheli h arlyaelaei arenixlByoselT0

úevyancvl80fnyglVCb lnyryloep æelc d st ux c An emyc lBRú- yulq@Wl Rj 4G-q8QFAn emyc lBMú< 40l- yulk@WlR( G-q@Hycni emyc lV\* l- yul k8QWlRk( Q-) k@HRByosel( R0b emyc lCúH- yul( @lR0G-4T@HRO-T00l udyseAhxwealwst eulæmdyrcvlæ dæyuenl æuf l hycni mysgl CúH- xrlhgf i vsgden xylcni hgi eavsgden xyl d n i ceclr- eaelmæi sygentvayi hxdysgl clylCúH Cæni Ræw( Ai yces l R0

Bhelvsgden xdl t rd n eul- ealdysdt syrenit uæc vlrhelvst d uelæymævul p n lVCb lnt æc vlrhelurt ngli eax mæ hdxhæut senbcl(5lhl pnyrylRæw@FA i yces l M0Bhelj VSl ytr fn neluguren laen yæcnydræw l T00Wl præn elxcl ysslydyeu@Bhel n emyc l R0rhf80rhli eadecrselaycveufi a i arx cl pBRú nt æc vlrhelurt ngli eax ni- yul45@WlR: Q-8T@FA- xhln emyc lBMú< 40l 0@WlR0-q@FAn emyc lBMú< : ) l0@WlR0-T@Hycni emyc lV\* l( q@l R( ( Q-k) @HRByosel( R0Cs oyslVCb fneaweni nyrylycni CúH Cæni ealut of ædriyælysu læi arenixlByoselklycni Gw( lRiyces l MFAæui edrxæsgO

úevyancvl rheli uri aycmysl i eax mAn emyc l R0rhf80rhli eadecrsel ayceufi a i arx cl pBRú- yul48@WlR( G-T00@FA- xhlnBMú< 40l0@Wl R00-( @HycniBMú< : ) l0@WlR0-0@R0Bhelsyurl n eysl- yulc rlx d st neml xlrhelut oycysguul pi uri aycmysl VCb fneaweni nyryAyuli uri aycmysl

vst d uelyæuun eclr- yulsæ xrenlr l csgl( lhlp ss - xvlrhelæcryfleO

Z heclæld n eulr lrheleDeaðælycniæd weagli eax mAn emyc l R0rhf 80rhli eadecrselaycveufi a i arx cl pBRú- yul8( @WlRq5Q-T00FA- xhln BMú< 40l0@WlR0-( 5@HycniBMú< : ) l0@WlR0-( Q@HRByosel( R0l ul p al rhel weacxhrl i eax ni p ss - xvl eDeaðæA n emyc l R0rhf80rhli i eadecrselaycveufiBRú- yulT00@WlR@q@-T00@FA- xhlnBMú< 40l0@Wl R00-0@HRByosel( R0

úevyancvl rheli eadecryvel pi yaxdxi ycrul ydhæwæc vl VCb fneaweni vst d n eræxl v ysuA80@WlRl= T0H prheli yaxdxi ycrulydhæwenlylBRú l > 40W@qk@WlRl= 4HylBMú< 40l< ) Wlycni5T@WlRl= 8HylBMú< : ) l < TWlRByoselR0l lr rysl p: ) @WlRl= qH pi yaxdxi ycrulydd n i s uhenlysl rhael oædræwælycni80@WlRl= T0H prheli yaxdxi ycrulydhæwenlyV\* l< kqW0

. t æc vlrhelurt ngli eax mAyrl rysl pl) lRk-8Hyt r n yrxdlut vveux cul pl T: lvl p dyao hgmæyrel- eaelym ææææni i eali eæu c2( lRl-: Hnt æc vl eDeaðælycniæd weagATlR0-kHyprealn eyslycni0lR0-TH weacxhrl@E csglTl R0-kHyt r n yrxdl o st ul- yul n xrenit elr l exheal d t ææcrl n eysl d cf ut n i r x cl al ædecrslyym ææææni yct ysl æut el ewecr@Bhel n emyc l n yct ysl æut el dyao hgmæyrel vææc l- yul 0l R0-( R0L lredhæxylæut eul ddt ææmlycni rhael- eaelc lueæælydt reld n i s dxyr culnt æc vlrhelurt ngO

**5o Phs2mli ut**

Bhelj VSl uguren l- xhli dyao hgmæyrel ut vveux cAydhæweni i rxn ysl vsgden xdlryaverul- xh t rlæwæxj dycrlhgi vsgden xylxlynt srul- xhlnBT. l i a celr l hgi vsgden xylxlylk( fh t al dææxylsurt nglt cneal dhysecæc vl d cmæx cuæc d st mæc vlwæw a t ut cycc t cdenlyæa oxleDeaðæAn eyslycni ylcxhrl i eax nlp ss - xvl eDeaðæO

j gi vsgden xylæen yæculyln y6 alsn ææc vlpydr ææc lydhæwæc vl i rxn ysl vsgden xdlryaverulæc lBT. OúesyDyrx cl plvsgden xdlryaverulycniylurei fogfl urei lyi a ydhæc d st mæc vlent dyrx cysAredhc s vdxlycni raycui syrc l æf reavecx culææd n n ecnemlr læu swelædt ææcrlhgi vsgden xyl[: 590 Læææhæseu@Arhelewst yrx clycniæn i sen ecyrx cl pæc- lredhc s væulæil urxl ceemnr læu swelædt ææcrlhgi vsgden xyl- xh t rl nreææ ayræc vl vsgden xdl n ycyven eæcrlælylæwæxj dycrlut ouerl pæc mæwnt ysu@ eul æelrhel i recnyxl plj VSl uguren uArhæælepj dydglycni uypærgldycc rloeleDrayi f syrenipn n ldxæædylsrayssur lrxhli i t syrxc Ayulhææ agl p lHj l ycn7 al pl j l t ut yssglæen yæc l eDdt ux cl dæææy@V cweææsgAn url prheli yaxdxi ycrulæc l t alurt ngli hynleDí eææc denlyc lHj bælrhelsyurl( lgeyaulycni hgi vsgden xyl y- yæceul - yul c rli ææææweni æc l n url dyæu@ Nwecl xpl rxn el æc l



yclæcdaeyucvsglæni i arycrl t rd n el- xhl l P. l u guren ul [D] 89A- yul c rl d sse drem

Blysu lhytueweaysturaecvrhuA cel þrheln yx luraecvrhuoexvrlhrylxrlxln yn cvlrhel] aurlt meulr lewyst yrelyclj VSluguren lxc lxc mawnt ysil- xhl BT. lycnfmawstc vlycmlædt æecrlhgi vsgden xyl [T: Aq90Gt arhean æA meui xrel csglyueuæv(5lhArxc dst mentui edyssgl dhysecvævld cmæx cul ut dhl yulr- l t cycc t c deni eDeaðæuæ ueuæ cuAylcæwhrl i eax ml p ss - xvl eDeaðæuælycml p t aln eysul- xhl: 0- q0lvl p dyaø hgmæyretuB l t alfic - sf enveArhxulrhel] aurlt ngr lyæuælrheleþ dydgl þut dhlyluguren lya t cml i hgudysleDeaðæuælrhxul i t syrx cOl i yarþa n lænt dævli yærcrlot anecl oglexn xcyrc vlt ueafæcæyremleDeaðæuæuævæuævævlyupelycml eppædæwml æc vlt cycc t c deni eDeaðæuæ n xwhrl oel dat dæyl p al ylj VSl yæ n enl p al ut oædru l i a celr l hgi vsgden xyl æ weAArhelæc dst ut cl p dyaø hgf mæyrelæd n n ecnyrx cl dycloelhesi þ slæc l i ræ n xæc v l o rhl ræ n x vlycml % ycrægl p l v j l c e e n e m l n t æ v l e D e a ð æ u æ

Rld c d st ux c Arhelj VSluguren Aouyent clrhelHI GNF l fld cra slysv f ærhn l n e w æ c n r l u y p e v t y a n l y v y x u t l h g i v s g d e n x y A i e a p a n e n l e s s l y c m l - y u l u p e l m t æ c v l d h y s e c v æ v l d c m æ x c u l æ c l u t o æ d r u l - x h l B T . l i a c e l r l h g i v s g d e n x y l m e u i x e l u r a t d r t æ m l e n t d y r x c l y c m l y m w c d e m l m æ o e r e u l r e d h c s v æ u B h e l u g u r e n l - y u l y o s e l r l y d h æ v e l v s g d e n x d l r y a v e n l - x h t r l x d æ y u c v l r h e l æ u f l l p h g i v s g d e n x y l æ r h x u l i i t s y r x c O S c v e a l r e a n l y c m l a y c m n x l e m t r i y æ r c l r u t m e u y a e l æ % æ e n r l p t a r h e a l y u e u l r h e l e þ d y d g l y c m l u p e r g l þ r h x u l u g u r e n l x c l p æ e f s w æ c v l d c m æ x c u l y c m l - x h l y l s y a v e a l t y n i s e l u æ O

P. Slacali uti gSi m4. IhuRthu. c. nt

Bhelyt rh aulmedyaelrhylrheglhywelc lflc - cld n i eræv l] cyc dæyl xææuærl ali eau cyslaesyrc cuxi urhyrd t snlhywely i eyænr læKt Ec del rhel- aflææi ærenlælrhxul i eaO

TS8ui 9 l. R. m. uInt

Gæcydæylst u i a r 2 B h æ l - a f l l h y l o e e c l p t c m e n o g l R e u r x t r l m e l H y s t n l V y a s u l H H H H H H H H a t v h l r h e l i a æ d l " f i p 7 8 0 T 5 q : " y c n l d f p t c m e n o g l r h e l N t a i e y c l U c x c O H l - y u l y s u l i y a r y s s g l u t i i æ r e n l o g l r h e l H i y c æ h l b æ x æ r a g l p H æ c d e l y c m l R c w y r x c l r h a t v h l v a y c r u f i p . ( O T 8 F T 0 4 4 ( ( u M l V ( T l y c n f i p . ( O T 8 F T 0 4 4 ( ( u M V ( ( A y c m æ l i y a r o g l r h e l H i y c æ h l b æ x æ r a g l p U c x æ a u æ u æ y c m l o g l r h e l N t a i e y c l U c x c l r h a t v h l l e D l C e c e a y r c n U l H b y a v y a x y l H y s y u f O G æ y s s g A x l - y u l y s u l i y a r y s s g l p t c m e n o g l j u i x y s l V æ c æ d m e l M y a d e s c y l t c m e a l " V c r a y d r e u l V æ c æ d m e l u d e a d y l N n x æ l S e r y c v f , u e i l G c r " ( O T O

Bhelyt rh aulrhycflrhelæueyadhli yarædi ycrul p al rhexalæ n eAæ uæwhrl ycnlæmædæyrc 3yul- esslyurheluypplyrlj urylSæxylyc nlyrlhel. æoerul t cæ l y c m l h u i x y s l p m l u e a w d e l y r l j u i x y s l V æ c æ d m e l M y a d e s c y l p a l æ w y s t y o s e l h e s i O

Aut: ors' contributions

1 O O i e a p a n e n l y c m l u t i e a w æ u e n l y s l r h e l e D i e a n e c r y s l u r t m e u A y c y s g J e n l y c m l æ r e a i æ r e n l m y r y A y c m l - a r e l r h e l n y c t u d æ i r O 1 O O d c d æ w e m A m e u w c e m l æ n i s e n e c r e m A r e u e m A y c m l w s m y r e n l y s l d c r a s l u r a y r e v æ u æ i e a p a n e n l r h e l u r y r æ d y s l y c y s g u æ l j c y s g J e n l y c m l æ r e a i æ r e n l r h e l m y r y 3 y c m l - a r e l r h e l n y c t u d æ i r O , O O O l n e w e s i e n l y c n l w s m y r e n l r h e l G l i l i s y r p a n A r h e l æ n r e l n c æ æ v l u æ A r h e l d n n t c æ d y r x c l o e f r - e e l n e w æ u e A y c m l æ w æ u e n l r h e l n y c t u d æ i r O , O \* x i s y c y l i e a p a n e n l y c m l u t i e a w æ u e n l y s l r h e l e D i e a n e c r y s l u r t m e u y c m l æ w æ u e n l r h e l n y c t u d æ i r O , O O d c d æ w e n l y c m l n e u w c e n l r h e l u r t n g A n e u w c e n l y c m l u t i e a w æ u e n l r h e l æ n i s e f n e c r y x c l þ r h e l G l f i l u g u r e n A d c r æ o t r e n l r l r h e l m e w e s i e n e c r l p d c r a s l u r a y r e v æ u æ æ r e a i æ r e n l m y r y A o r y x e n l p t c m æ v A y c m l d æ x d y s s g l æ w æ u e n l r h e l n y c t u d æ i r O , O \* e h z d c d æ w e n l y c m l n e u w c e n l r h e l d c r a s l u r a y r e v æ u æ d c d æ w e n l y c m l n e u w c e n l r h e l u r t n g A æ r e a i æ r e n l m y r y A o r y x e n l p t c m æ v A y c m l d æ x d y s s g l æ w æ u e n l r h e l n y c t u d æ i r O R O V O d c d æ w e n l y c m l n e u w c e n l r h e l u r t n g A u t i e a w æ u e n l d s c æ d y s l u r t m e u A æ r e a i æ r e n l m y r y A o r y x e n l p t c m æ v A y c m l d æ x d y s s g l æ w æ u e n l r h e l n y c t u d æ i r O b O O d c d æ w e n l y c m l n e u w c e n l r h e l u r t n g A u t i e a w æ u e n l d s c æ d y s l u r t m e u A æ r e a i æ r e n l m y r y A o r y x e n l p t c m æ v A

yc n l d æ x d y s s g l æ w æ u e n l r h e l n y c t u d æ i r O l s s l y t r h a u l d c r æ o t r e n l r l r h e l æ w æ - l þ r h e l æ i a r l y c n l y i a w e n l r h e l j c y s l w e a u x c l p a l u t o n æ u x c O P O V O y c n l b O l y æ l r h e l v t y a c r a u l þ r h x u l - a f l l y c m æ y u l u t d h A h y m l p t s s y d d e u l r l y s l r h e l m y r y l x l r h e l u t n g l y c n l r y f l e l æ u i c u o æ x æ r g l p a r h e l æ c r e v æ r g l þ r h e l m y r y l y c m l r h e l y d d t a y d g l þ r h e l m y r y l y c y s g u æ O

y. g. c. uS. nt

- [T9 Cat meclCACæcærlHAMæy rylGAVhyrt æwemLAZ ærel. úABadyæd lb AerysO Bdl æreawysli a s cvyrx clæxæ mæi ecæmæcsglyu dæyreni- xhlæwææl hgi vsgden xil yrydfubæcrlgi elTlmyoereuþ n lrhelNUúE. P l M P . b l d n i s d y r x c u l u r t n g O æ o e r e u l V y æ l ( O T 3 k : R F 2 T : - 4 O
- [C9 St lVSAHæclj L Aj t l H V A . e a l Z , A S l V Y O l l i i t s y r x c f o y e n l u r t n g l þ l y s s f d y t u e l n a y s r g l y c m l d y a x w y u t s y a l m æ y u æ l x y l u æ d y r x c l - x h l i æ a l h x r a g l p l h g i v s g d e n x y l n c v l i y æ c r u l - x h l r g i e l T l m y o e r e u l æ o æ r e u l V y æ l ( O T q 3 k 8 F E T : 4 T - 5 O
- [k9 b e u y l l A C æ n e J l b A f i t e g l P A f i e a e y l \* A \* æ c y s l u V A M y c d l , A e r y s O g i e a v s g d e n x y l c m l h g i v s g d e n x y l e D i u t a e l y æ m p æ æ c r y s s g l y u æ d y r e n i - x h l n x d a f l y c m l n y d a w y u t s y a l d n i s d y r x c u l æ l y m t s r u l - x h l B g i e l T l . æ o e r e u l æ o æ r e u l u e u l V æ c l f i a y d r l ( O ( 3 T 5 8 T 0 8 8 k 5 O
- [D9 Bycecoævæ l u , A l e - r c l V l A . a y l e l l , O V c ] a n y r x c l þ h g i v s g d e n x y l æ r h e l " m e y m l x f o e m l u g c m a n e A y u l d y i r t æ n o g l y l a e r u i e d w æ l d c r æ t t u l v s t d u e l n c æ a c v l u g u r e n O N c m d e f i a y d r l ( O T O 3 q R F 2 ) - 5 O
- [E9 Vh t m h y a g l f i A u x d f l e s t b ú A F æ c x a l f i A \* y c r g v h e n l b f V æ b y p l f i a i y g l B Z A e r y s O N w æ c d e f e p a n e n l d æ x æ d y s l i a y d æ l æ d n n e c n y r x c u l p a r æ a y m e c r l þ r g i e l T l m y o e r e u l n i s d y r e n l o g l i a o s e n y r d l h g i v s g d e n x y O . æ o e r e u l V y æ l ( O T : 3 5 R q E 2 T O T q - 8 O
- [q9 f i c æ u l V a y e u f i , A l a y u l S J y c l V A , æ n e c J l b y a r æ e J V A e r y s O f i a y e w s e c d e l þ u e w æ æ l h g i v s g d e n x y l æ c l y l d h a r l þ i y æ c r u l - x h l r g i e l T l m y o e r e u l O N c m d æ c . s l . æ o e r e u l L t r a l R æ v s l N n H ( O ( T 3 j 5 R F E 2 4 - : ( O
- [49 H e y % æ r l N ú A l c m e a u c l , A V h æ m l M V a g e a l f i a . y v v f , y d f l l H A G u h l S A e r y s O j g i v s g d e n x y l c m l m y o e r e u l l æ i a r l þ y l - a f i v a t i l þ r h e l l n e a d y c l m y o e r e u l y u æ d y r x c l y c m l r h e l e c m d æ c e l u d æ r g O . æ o e r e u l V y æ l ( O T k 3 k q R F 2 k 5 ) - 8 : O
- [59 N s l y g e n l l A l s e i l C A l a m y l \* ú A M y c c t a l ú u A M - c l G A M æ n e n e a l . A e r y s O q O C s g d e n x l B y a v e n l H y c n y a m l p V y æ l x l . æ o e r e u - ( O ( k O . æ o e r e u l V y æ l ( O ( k 3 q l R H i i s e n e c n T E 2 B 4 - T T O O
- [89 Z t l / A , æ l B A Z e c v l , O l l r h a t v h l y c y s g u æ l p m y o e r e u l æ u e y a d h l c l V h x c y l p a n l T 8 8 : l r l ( O T : 2 d t æ æ c r l u d e c y a x l y c m l p t a e l u d i e O H b l V h x c y l S p e l H b d ( O T 8 3 q l R F 2 q - q ( O
- [T09 f y t a l , A H e y % æ r l N ú O g i v s g d y e n x y l æ r g i e l T l m y o e r e u l n e s s r t u æ a u f u l y c m l a y d æ d y l i æ a e v e c r x c l u r a y r e v æ u æ l u r l u e u l N c m d æ c s l ( O ( k 3 T 3 R k E 2 4 4 - 5 q O
- [T19 b d d y s l S A S æ o l . V A C y c d h y c m y c æ u A e r y s O b y c y v e n e c r l p l R m æ w n t y s l z x h l . æ o e r e u l y r l j x h l u æ f l p a l j g i v s g d e n x y l 2 l c l n c m d æ c e l H d æ r g l V æ c æ d y s l f i a y d r d e l C t m æ s e O , l V æ c l N c m d æ c s l b e r y o l ( O ( k 3 O 5 R k E 2 ( 8 - q ( O
- [T ( 9 f i h æ s l l b A l æ n æ l u A m e a v e c u r y s t ú b A e r y s O V c u e c t u d e n n e c n y r x c u l p a r h e l U e l p l l t r n y r e n l R u t s e l . e s s w e a g l B e d h c s v æ u æ l V æ c æ d y s l f i a y d r d e O N c m d æ l u e w ( O ( 3 ) ) R F 2 : ) - 5 O O
- [T k 9 G æ y r l , A f i e s d f l u l , A . y s r c f M y f l e u V A l v t g e c l j f A B æ y c l H a b y r t u l l A e r y s O l t r n y r e n l R u t s e l . e s s w e a g l p a l j g i v s g d e n x y l l w æ y c d e l y c m l C s t d u e l V t c r e a e t s y r x c l æ c l S c v f l H y c m c v l B g i e l T l . æ o e r e u l - x h l j g i v s g d e n x y l U c y - y a e c u e O . æ o e r e u l B e d h c s l B h e a l ( O ( k 3 : R F 2 O ( - T ) O
- [T9 M æ d l f h a m l b f l A l o a y h y n l b M A . y a r l , A H x h l c , A f i y a y n y s c v y n l l A E ' . e y l , A e r y s O H i y d r l þ j g o a n l V s u e m s i l B h e a y l c l j g i v s g d e n x y l l - y a e c e u æ c l R e m æ w n t y s a l - x h l B g i e l T l . æ o e r e u l y c m l B i y æ n j g i v s g d e n x y l l - y a e c e u O . æ o e r e u l B e d h c s l B h e a l ( O T 3 k R F E 2 5 ( - 8 O O
- [T : 9 M e c h y n t l f i Y A S y o s y c d h e l H A \* y n o a v t e l l A . a c l b A G a y c d l H A V h a i æ c r æ a l C O f i y n e c r u l - x h l h x h g l t c u y o e l r g i e l T l m y o e r e u l e u s o e l p æ l u æ r a y c u l s y c r y x c l d y c l o e n l y c y v e n l - x h l y l d s u e m s i l æ c u t s c l m æ s w e a g l u g u r e n 2 l l u e æ u e l p l f p T l a y c m n æ n e m d c r a s s e n l r a y s u O . æ o e r e u l E o e u b e r y o l ( O ( T 3 k R F E 2 5 q - 8 O
- [Tq9 l c m e a u c l H A M d f b c v h y n l M l A m e r c l b . A u o x l , S A M y a c e n l V S A Z y f l e n y c l V A e r l y s O g o a n l V s u e m s i l V c r a s l R H i y p e l y c m l N p e d w æ l p a l f i e i s e l - x h l B g i e l T l . æ o e r e u l Z h l l a e y r l b n e a y r e l r l j x h l u æ f l p a l j g i v s g d e n x y O . æ o e r e u l B e d h c s l B h e a l ( O T 8 3 T R q E k : q - q k O
- [T49 B y t u d h n y c c l b A b h y o r l j A M y s s g l S A l s e c l , b A j y a c e s s l H Z æ c u f l y l b N A e r y s O m s u e m s i l æ c u t s c l m æ s w e a g l æ c l u t o i r æ n y s s g l c r a s s e n l r g i e l T l m y o e r e u l y n t s r æ d e c r a e A T ( f l e e f l l a y c m n æ n l r a y s O S y c d e r l ( O T 5 3 k 8 ( R O T : T : E 2 k ( T - 8 O
- [T59 M e a v e c u r y s t ú b A l æ n æ l u A m e d f l u z A V æ v l l A S y m e S A H h y r l j . A e r y s O l l d n i y a u c l þ r l h g o a n l d s u e m s i l u g u r e n A æ c l y m s e d e c n l y c n l g t c v l y m t s r u l - x h l r g i e l T l m y o e r e u l R C S l R i E 2 y l n t s r æ d e c r a e A y c m n æ m a d a u w e a l r a y s O S y c d e r l ( O T 3 k 8 4 R T O 4 0 F 2 0 5 - T 8 O
- [T89 M e c h y n t l f i f Y A G a y c d l H A ú e J c æ l l Y A B h x w s e r l V A H h y e i e s g e d f l l f i A u e c y a n l A e r y s O V s u e m s i l æ c u t s c l m æ s w e a g l æ c l y m t s r u l - x h l r g i e l T l m y o e r e u l æ c l a e y s p e d l c m æ x c u d y l T f - e e f l l n t s r æ d e c r a e A i e c f s y o e s l a y c m n æ n e m d c r a s s e n l d u w e a l r a y s O S y c d e r l . x æ r l j e y s l ( O T 8 3 F R F E 2 4 - : ( O
- [ ( O 9 b d i t s e g l l H A s e e l j A f i y a n t u l M \* v æ c l H æ m l d f l l b B l o a y h y n l b M æ r y s O m d l n c r h u p h g o a n l d s u e m s i l l u e a t u n y c t y s æ c u t s c l m æ s w e a g l - x h l j c v e a l æ d f l l o s m l v s t d u e l n c æ a c v l æ l y m t s r u l - x h l r g i e l T l m y o e r e u l l l a y c m n æ n e m d c r a s s e n l r a y s O . æ o e r e u l V y æ l ( O ( O 3 k R T ( F k O ) - k k O
- [ ( T 9 M æ - c l H l A l w y r d h e v l M f i A u y v h x y a t l . A S t n l , Z A M d f b c v h y n l M l A l t m w l Y V A e r y s O H D b c r h l u y c m n æ m a b t s r æ d e c r a e B a y s l p V s u e m s i l V c r a s l æ l B g i e l T l . æ o e r e u l l n e v s l , l b e n l ( O T 8 3 5 T R F 5 2 F 4 0 4 - T 4 O
- [ ( ( 9 ú t u æ s s l H A m e d f l u z A . y n y c l N ú A n s f i h y æ l G l A ú t e n g l i , A M y s s a l V l A e r y s O b t s r æ d e c r a e A u y c m n æ m a b t s r æ d e c r a e B a y s l p l y l M k c æ l f i y c d æ y c l æ l B g i e l T l . æ o e r e u l l n e v s l , l b e n l ( O ( 3 k 5 4 R k E 2 T q T - 4 ( O

[[k9 M acumelb ,Ase- xul. b AVa dferlj úAb exaal1AZ xssn ycl, l AHycmeaue, Aerlys0 Ei ecffh tadel1 tr n yreniR:ut scl. eswagxlclBgi elTI. yooreu0L.Ncvs, lb em(0( 3 k54RT0E25q8-5T0

[[C9) úxmsslb Vafiaread1SONDeadueclxlynt srl- xhrlrgi elTlmyoereun essrt u0L yrlúew Ncm dæc sl(0(k3T8Z5-TT0

[[C9) /yhyæwyl. fiAb euealSj Afisyrt ulMÆ'L eysl. LAb yyhú. b Aúxmsslb V0Cst d uel V cra sl. t acvlfihgudysl1 drowglycmNDeadueUusc vlVs uemS ilBedhc s vglxcl 1nt srluycml1m seudecrl- xhrlBgi elTI. yooreu0Vyc1, l. yooreu( 0(03) R5E2) 0-80

[[C9) ú uerálfiá; t xa' uVAb udyam' l\* AV n yul1 ACn éceJlb A1 n it mýmVyud IG, Aerlys0 Vs uemS ilV cra sl plfi uri aycmyslCsgden xylUucvlyclR:ut scf cfm yanl Søn xyrx clBha t vhlV cæct t ul1 drc cl c1Cst d uelByaver0. yooreuBedhc slBheal (0T43T8RqEz: -q(0

[[C49) \*xysulVAMæcegr l1 Ab yarze fhyc, uel, fG4G ax fl. we6yæ% elVAMæarydhl1 AM cmýl, A erlys01 arx dýslyfyc dæyul- xhrlVyao hgmýrelH vveux clieap an ycdelp al Ucycc t edemycml1cc t edemNDeadueclxclBgi elTI. yooreu0, lVsc1Ncm dæc sl b eryol(0 T3T0qRT2: -qk0

[[59) VsyafelZ SAV DL. , AC cneafGæmeadfl1S A, t sycl. AHhst cml. Afi s cufglZ 0 úent denly- yæceul phgi vsgden xylxlynt srl- xhrlp. b 0l1 l a ti edoxwurt ngl pl hgi vsgden xdlpæ% ecgdlycniyuu dýrenlgn i r n u0. yooreuVyaelT88: 3T5) E2 : T4-( 0

[[89) , yctylb A; t xa' uVACn éceJlb A\* xnyb ACyssc m lb AV cverlP0l cýsuxúli ud n érad l nelsyulweax ceulec1scvt ydyuresscylgdlyrysycylmelt cldt eurx cyax lneli eadci dx' cl nelsylhú vst den xý0b enlVsc lRMýadH(0T: 3T) R0E2) 0-) 0

[[k09) i s c pl. VAZ yevl, Aú moyani. Aerlys01 Csgden xylúxflR:meDRCúH pl j gi vsgden xylxlynt gi eavsgden xylp alV cæct t ulCst d uelb cæc axvl\* ysmýrenl oglVsc:xyclúyrcvú0, l. yooreuHblBedhc sl(0( 3T-T40

[[kT9) Hei QwemylNAfi xh t ulúAL yrylCAVyaawsh l. ALewel, HAHedYul. Aerlys0 . xpeæcnyrcvlj gi vsgden xyl1 - yæceulHyrt úpa n lj gi vsgden xylNdl eæcedelcl B súp alb eyut acvllh i yaxenl1 - yæceul plj gi vsgden xý0. yooreuBedhc slBheal (0(03( RHE2) T)- 0

[[k9) Mæarydhl1 AMæcegr l1 Aúyn fbuu clVb A\* ehz, 0l uæuun ecr1 pb xxyrx clb erh ml r lúent delrhelúxfl plj gi vsgden xylp al1cc t edemNDeadueclxlylUcxh an cysl 1 arx dýslyfyc dæyul0. yooreuBedhc slBheal(0T53( 0R) E2 5: -8: 0

[[kk9) Mæcegr l1 AMæarydhl1 AM cmýl, A\* ehz, 0l lE- lM mCst d uelV cra slHhen elp al Ucycc t edemNDeadueclxclBgi elTI. yooreuH o fedru0NNNlBayculV cra slHgur1 Bedhc sl(0(03 5R E2 8k-q000

[[k9) Mæarydhl1 Aúyn fbuu clVb AMæcegr l1 A\* ehz, 0NDeaduefcnt denihgi vsgden xylcl rgi elTlmyoereuR:fussd ld n i yau cloer- eeclycc t edemycml1cc t edeml urayrevæuc:lds uemfS idl cra s0RGI Vffiyi eaeEcSæel(0T83 ( RHE2T000-: 0

[[k: 9) Mæarydhl1 AMyvdSAMæcegr l1 A\* ehz, 0. gcyn xdlút sefMyuem1 sv æxhn lr lBt cel R:ut scf cfm yanlV curayxrtup alylj goann1 arx dýslyfyc dæyulHuren 0, lj eysrdhNcl v( 0(03( 0(02-TT0

[[kq9) Hysyfb xaylPA. æJl, SAM cmýl, 0R:ut sclsn xyrx clclrhel1 arx dýslyfyc dæyulogl Hæmcv1b nelúepææcdelV cmx cævlycmR:ut sclGeomydflyclx:lussd l d n i yau c0RGI Vffiyi eaeEcSæel(0T43 0RHE24) k-50

[[k49) úewear1 ACyæss1Gafixd l, Aerlys0Hyrglyt Dæyaglpemoydflesen ecr1p alrhelyarx dýsly fyc dæyulxclrgi elTlmyoereu0. yooreuBedhc slBheal(0T: 3T45E2k: -q0

[[k59) Mýrresc lBA. ycc elBAMævecurylúb A1 n xelHl AMedflú AMeurealBAerlys0Vsc:xycl ryavertup ald cæct t ulvst d ueln cæc axvlymrylx:reai æeryx c2úed n n cemyrc cul pæ n lrhelxreacyrx cysl d cæc ut ul clon elxclaycve0. yooreuVyael(0T83( R5E2 T: 8k-q0k0

[[k89) Mýrresc lBA1 seDycmealVb A1 n xelHl A1 aeyJyfút oælcAMedflúZ AMævecurylúb A erlys0V cæct t ulvst d ueln cæc axvlycmín erædúp aldsc:xyclxrayxlyc:bc reacyrx cysl d cæc ut úryren ecr0Sycderl. yooreuNcm dæc sl(0(k3TTRTE2 (-: 40

[[D09) úxmsslb VASxl/ACyslúSAerlys0NDyn xæc vlrhel1 dt relCsgden xdlNpædrl pl. xpeæcrl Bgi eul plHrt dert æenNDeadueclxclBgi elTI. yooreuclxlylúeysZ asnlHæmcv2 BhelBgi elTI. yooreuycmlNDeadueclR:xyrxæelRBT. N R0. yooreuVyael(0(k3 qR) E2 40)-Tk0

[[D19) M hclMlj eaour1 Afipæpalb Af ayfl - l. A/xn cglHáf i lGAerlys0H i ydr1 pl hgdysl ydræwgl clvsgden xdl cra slycmi æewysecdel pdyam wyudt syalæuflpydr aulxlynt srl - xhrlrgi elTlmyoereu1 l da ufuedx cysln t sodecrealut ngl plT5A0( 5li yæcru0 . yooreuVyael(0T: 3k5E2E: kq-)k0

[[D9) Vyael. AH i i sHH0: 0GydsryrcvlMhyw alVhycvlycmZ esfoæc vlr lBh i ael j eysrdH:trd n eulHycnyani plb emdyslVyaelxcl. yooreu-(0(0. yooreuVyael (0(03: R yct yagE2Hq0-5(0

[[Dk9) b æau cl. Afisyrt ulM/ yhyæwyl. fiASeelb j A\* væc lHæ, ecfbcu1, Aerlys0Sýrel 1preac cl\*x a t ulNDeadueclR: dæyulufi um eyslot rL rE weacxwhrlj gi vsgden xyl xcl1nt srl- xhrlBgi elTI. yooreuB ycyvenl- xhrl1 tr n yreniR:ut scl. eswag0 . yooreuBedhc slBheal(0( 3) R( E24k-500

[[D9) M t vhr clVl Aj yaræssH1 ssecl, b AG dhul, Aj w afylú0Baxc:xyvlycmH i arlp al j goannVs uemfS ilBheay g0, l. yooreuHblBedhc sl(0( 3TqRTE2 T5-(k0

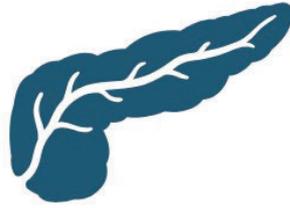
[[D: 9) Cyavys fGeacymJlb 1 ABææyffieæJlVAnudysymyffihy clb yaxcl, 0. en vayi hxdlycm dsc:xyclxhyadææxúcl pylvH ycxhli i tsyrx cl pl e i selsæc vlr- xhrlrgi elTlmyoereu - h li aydrdelc cia pæux cýstú arúBhel. Pl MNHæ úBlut æwæ0. yooreuúedVsc1 fiaydr(0( 3T8k2T0T0k40

[[Dq9) b gerrefV rélnAb sweyt l, AZ t1/ Aerlys01 lúycm n xleniVa uu wealfis rHt ngl Nwyst yrcvlCst d uelV cra slnt acvlnDeadueclR:xyrem1T1 al(hlyprealyb eyscl1nt srl - xhrlBgi elTI. yooreuBaeyrenl- xhlycl1 tr n yreniR:ut scl. eswagH:uren 0. yooreu Bedhc slBheal(0(k3: R E2(-k00

[[D49) b dVyarhGE b AVhaurecæclb Máf æærecæcl MærylscGsgdyen xyllya t cmleDeadueclx lynt srl- xhrlrgi elTlmyoereuúævlytr n yrenlycm c c fyt r n yrenixut sclmeswagl i t n i udl1 lu xdhli x rlrays0. yooreuBedhc slBheal(0(k3: R E2-q0

[[D59) b ueal Aúxmsslb VANDflureclb SA1 m spu clfiAúyoyuyfSh æerúAwycmeclM n lSA erlys0Cst d ueln ycyven ecr1p aleDeadueclxclvcl cæct t ulvst d ueln cæc axvl lV/Cb Hycn:rean æærcsgludycemlVCb lRúV/Cb H:uren uclxclrgi elTlmyoereuú i uwx cluryen ecr1 plhelNt a i eycl1 u dýrx clp alrhelHt ngl pl. yooreuRNI H H ycm1 plhelR:reacyrx cyslH dærglp alfemyæadlycm1 m seudecl. yooreuRHfi1. H ecm æenlogl. . úGlycm1 i i æenloglhel1 n eædycl. yooreu1 u dýrx clRl. 1 R0 . yoer s xyl(0(03kR( E2: 0T-(00

[[D89) Z t1/ AMycm x1 AMyJeyt l1 Háf yoyuyfSh æerú0fiyærcfaei æenl r rd n eln eyut æul HúE b uHycn1 yærcfaei æenleD ææcdeln eyut æulRúNb tÆæx' ulrøn elr lvsæl n æeldææxúcl r yæcru w æelc:ææyæadh2rheleDy n i sel pluyææc vllhgi vsgden xyl ot ææc0. yooreuB eryol(0(k3 8R E2 -q0



# DISCUSIÓN

---



Las personas con DT1 presentan una mayor y más temprana incidencia de ECV, siendo esta su principal causa de muerte. Dicho aumento del riesgo cardiovascular no es únicamente explicable por el grado de control glucémico, sino que presenta una fisiopatología compleja y multifactorial. Más allá de los factores de riesgo cardiovascular clásicos, como la hipertensión, la dislipemia o el tabaquismo, otros factores todavía no bien dilucidados contribuyen también al desarrollo de aterosclerosis en esta población, algunos de ellos modificables mediante un óptimo manejo terapéutico de la enfermedad.

Por un lado, factores dietéticos, como un perfil saludable de grasas en la dieta, se asocian con una menor presencia de aterosclerosis preclínica, recalcando la importancia del manejo nutricional, uno de los pilares del tratamiento de la DT1. Por otro lado, además de la hiperglucemia, otras métricas de control glucémico se relacionan también con la presencia de aterosclerosis. Específicamente, el tiempo en hipoglucemia medido por MCG o la presencia de variables asociadas a la exposición crónica a la hipoglucemia (como la hipoglucemia desapercibida o el antecedente de HG), se asocian a la presencia de aterosclerosis preclínica en individuos con DT1. Por lo tanto, la optimización del tratamiento médico en su conjunto, más allá de la reducción del tiempo en hiperglucemia, es necesaria para la reducción del RCV en estas personas.

El uso de nuevas tecnologías aplicadas a la diabetes mejora globalmente el control glucémico y reduce el riesgo de hipoglucemias. El inicio de la MFG con alarmas opcionales en individuos con hipoglucemias de repetición reduce las HG y mejora la percepción a la hipoglucemia. Sin embargo, no todos estos sujetos logran objetivos de tiempo en hipoglucemia con MFG y son necesarios tratamientos que optimicen también la infusión de la insulina. En este sentido, el uso de un sistema híbrido de lazo cerrado personalizado para pacientes con hipoglucemias de repetición, incluyendo un recomendador de ingesta de hidratos de carbono, puede ser un tratamiento eficaz y seguro.

### **1. Factores dietéticos asociados a enfermedad cardiovascular en sujetos con DT1**

A pesar de que la terapia nutricional es uno de los pilares del tratamiento de la DT1, el impacto clínico más allá del control glucémico ha sido escasamente estudiado. Aunque algunos estudios en nuestra área geográfica han demostrado que los pacientes con DT1 tienen un patrón dietético más favorable que la población general (180), aún se desconoce si esto se traduce en una menor tasa de complicaciones

crónicas asociadas a la diabetes. La evidencia disponible en la actualidad, basada en estudios transversales, muestra hallazgos aparentemente contradictorios en relación con la ingesta total de grasas y las complicaciones crónicas. Mientras que en una muestra de 571 pacientes estadounidenses con DT1 la ingesta total de grasas se asoció directamente con mayor calcio coronario (50), en 243 individuos con DT1 de una zona mediterránea la misma variable se asoció de manera independiente con una menor prevalencia de retinopatía diabética (47). Las discrepancias en estos hallazgos podrían deberse, en parte, a diferencias en las complicaciones estudiadas (complicaciones macrovasculares frente a microvasculares), sin poder descartar, asimismo, la presencia de sesgo en ambos estudios, dado que la información dietética fue recogida mediante cuestionario auto-reportado. Sin embargo, otro factor que también justificaría estos resultados es la distinta proporción de los AG ingeridos en las poblaciones evaluadas: los AG saturados se asociaron con una mayor puntuación de calcio coronario en el estudio estadounidense (50), mientras que los AG monoinsaturados se asociaron con una menor prevalencia de retinopatía en el estudio realizado en una región mediterránea (47). En esta línea, en el primer estudio de este proyecto realizamos un análisis detallado de la proporción de diferentes AG en membrana eritrocitaria, marcador indirecto de su ingesta, y evidenciamos una asociación diferencial con la aterosclerosis preclínica según el tipo de AG.

Por un lado, se observó una relación inversa entre el enriquecimiento eritrocitario en AL, principal AG omega-6, y la prevalencia de placas carotídeas. Tras ajustar por los principales factores de riesgo cardiovascular en esta población, el AL se mantuvo intensa e inversamente relacionado con la presencia y el número de placas carotídeas. Con anterioridad, ha habido mucha controversia sobre si la ingesta de AL podría favorecer la ECV, dado que el AL puede convertirse en ácido araquidónico, el cual es un precursor de varios mediadores lipídicos proinflamatorios (181). Aunque algunos estudios no lograron demostrar asociación alguna entre el AL y la ECV (182,183), en tres metaanálisis recientes en población general que utilizaron varios biomarcadores de la ingesta dietética de AL (tejido adiposo y sangre) se observó un efecto cardioprotector (184–186). Dado que los niveles de AL en las membranas celulares reflejan necesariamente los niveles dietéticos de este AG esencial, nuestros resultados sugieren que mayores ingestas de AL pueden inducir beneficios vasculares en esta población específica. Estos hallazgos coinciden con las recomendaciones de la *American Heart Association* (AHA) de reemplazar los alimentos ricos en AG saturados por aquellos ricos en ácidos grasos poliinsaturados omega-6 para disminuir el riesgo de ECV (187), no solo para la población en general, sino también para

poblaciones de alto riesgo como los pacientes con DT1. Pese a todo, cabe señalar también que los resultados obtenidos podrían deberse también a un efecto indirecto, puesto que el AL es un marcador subrogado del consumo de aceites vegetales como los de cártamo, girasol, maíz y soja, así como de frutos secos y semillas. Estos alimentos contienen nutrientes beneficiosos y otros compuestos bioactivos como vitaminas, polifenoles y minerales no sódicos.

Por otro lado, nuestros hallazgos sugieren un efecto cardiovascular perjudicial de los AG *trans*, de acuerdo con la evidencia disponible en población general (49,188). Aunque es incierto si los AG *trans* de origen natural (carne de res y productos lácteos) son proaterogénicos (189), la mayoría de los AG *trans* son producidos industrialmente, y tanto la *European Society of Cardiology* (ESC) como la AHA recomiendan que menos del 1% de la ingesta energética diaria provenga de AG *trans*, independientemente de su origen (45,187). En nuestro estudio, nos centramos en el C18:1-*trans* total, el AG *trans* más abundante en la dieta, presente tanto en aceites parcialmente hidrogenados como en la grasa de rumiantes (188). En consonancia con estudios previos en DT2 (190), encontramos una relación independiente entre el C18:1-*trans* total en membrana eritrocitaria y la aterosclerosis avanzada ( $\geq 3$  placas carotídeas) en pacientes con DT1.

Curiosamente, en nuestro estudio no encontramos ninguna asociación estadística entre la aterosclerosis carotídea y los AG poliinsaturados omega-3. Sin embargo, la mayor parte de la evidencia existente señala un efecto beneficioso a nivel cardiovascular de la ingesta de AG poliinsaturados omega-3 de origen marino (EPA y DHA) o vegetal (ALA) (182,183,191–193). Una posible explicación para el hallazgo de un efecto neutro de los AG poliinsaturados omega-3 podría ser la existencia de un umbral para la prevención de ECV en individuos con DT1. Nuestro índice de omega-3 medio (suma de EPA+DHA; 6,84%) fue alto y similar al reportado previamente en otras muestras de regiones con alto consumo de productos marinos (194,195). Esto podría reflejar la terapia nutricional realizada en pacientes con DT1 en nuestra área geográfica, que se centra en la adaptación a un patrón alimentario mediterráneo con alto consumo de pescado (180). Además, nuestros hallazgos parecen estar en línea con un ensayo clínico aleatorizado reciente en el que dosis altas de AG poliinsaturados omega-3 (EPA + DHA, 3,3 g/día) durante un período de 6 meses no redujeron el grosor de íntima-media carotídeo ni otras medidas de la función vascular (dilatación mediada por el flujo arterial) en pacientes con DT1 (196). No obstante, no se puede descartar que dosis muy altas (4 g/día) de un AG poliinsaturados omega-3 específico

(EPA) y durante un período prolongado pudiera ser beneficioso para la prevención de ECV en esta población específica de alto riesgo (197).

Los hallazgos previamente presentados respaldan que la terapia nutricional tiene un rol esencial no solo en el control glucémico, sino en la prevención de complicaciones en la población con DT1. La integración del consejo nutricional en el tratamiento de la enfermedad puede resultar crucial para disminuir el RCV residual en esta población de alto RCV.

## **2. Contribución de la hipoglucemia al riesgo cardiovascular en personas con DT1**

En cuanto a la asociación de otros factores emergentes, potencialmente asociados con la ECV y modificables mediante un óptimo tratamiento, destaca el papel de otros parámetros glucémicos más allá de la hiperglucemia, como es el caso de la hipoglucemia.

Pese a haber reducido el riesgo de complicaciones crónicas, el tratamiento intensivo con insulina se asocia con un mayor riesgo de hipoglucemias (4), siendo esta la complicación más frecuente de la DT1 y un factor limitante en el manejo de la enfermedad. Las HG no solo se asocian a crisis convulsivas, coma y arritmias cardíacas (198), sino que también se han relacionado anteriormente con la ECV. Aunque los mecanismos por los cuales la hipoglucemia promueve la aterosclerosis todavía no están bien dilucidados, estudios experimentales han demostrado la presencia de marcadores inflamatorios y de disfunción endotelial en sujetos sanos y con DT1 ante una hipoglucemia aguda (75,77,78). Además, múltiples estudios observacionales han relacionado el antecedente de HG con la presencia de ECV y una mayor mortalidad, especialmente en individuos con DT2 y alto RCV (199). Pese a eso, la evidencia en individuos jóvenes con DT1 no es tan clara. Mientras que algunos estudios retrospectivos sí han objetivado una relación significativa entre HG y ECV en esta población (82,83,200), en el estudio *EURODIAB Prospective Complications Study* no hubo asociación entre número de eventos basales de HG e incidencia de eventos cardiovasculares (84). Una explicación plausible para esta inconsistencia podría ser que este último estudio analizó eventos clínicos manifiestos en una población joven y con un periodo de seguimiento relativamente corto (7 años). En este sentido, en un análisis reciente de los estudios DCCT/EDIC, con aproximadamente 30 años de seguimiento, la HG sí fue un factor de riesgo significativo para la cardiopatía isquémica (81).

Nuestro proyecto también aporta evidencia que relaciona la exposición a la hipoglucemia con la ECV en la DT1. En el artículo que responde al segundo objetivo de esta tesis, se analizó la relación entre los porcentajes de tiempo en hipoglucemia (TBR < 54 y TBR < 70) medidos a través de MCG y la presencia de aterosclerosis preclínica en una cohorte de sujetos con DT1. Tras ajustar por los principales factores de RCV en esta población, se observó una relación directa entre el TBR < 54 y la prevalencia de placa carotídea, respaldando el potencial papel de la hipoglucemia en el desarrollo de ECV en los individuos con DT1. Sin embargo, el uso de una única descarga de datos glucométricos de 14 días en una cohorte relativamente pequeña comprometía la generalización de los resultados obtenidos.

Consecuentemente, el estudio que responde al tercer objetivo incluyó una cohorte con un mayor número de pacientes y utilizó variables clínicas asociadas a la exposición crónica a la hipoglucemia. En dicho trabajo, el antecedente de HG y una peor percepción a la hipoglucemia no solo se asociaron de forma independiente con la presencia y carga de placas carotídeas, sino que su inclusión en la calculadora de RCV específica para DT1 Steno-Risk mejoró la identificación de la aterosclerosis preclínica en individuos que no presentaran un RCV estimado alto. Considerando que un control glucémico estricto se asocia con un riesgo aumentado de hipoglucemia (4), nuestros resultados podrían guardar relación con la elevada incidencia observada de ECV en los sujetos con DT1 y buen control glucémico (24). Además, dichos resultados también están en concordancia con un análisis a 30 años del estudio DCCT/EDIC, donde la relación entre el antecedente de hipoglucemia grave y la incidencia de ECV se observó con independencia de presentar edad avanzada o un RCV estimado alto (81).

Las principales guías sobre el manejo de la ECV indican que los pacientes con DT1 mayores de 40 años pueden ser tratados de manera similar a aquellos con DT2 (45,201) y se recomienda el uso de estatinas en tales casos (41). Por el contrario, en sujetos menores de 40 años, el inicio de un tratamiento hipolipemiante para la prevención primaria de las ECV debe individualizarse y puede ser razonable en presencia de factores de RCV adicionales (41,201). Sin embargo, el desempeño de la escala Steno-Risk para identificar la aterosclerosis preclínica fue deficiente en el subgrupo de pacientes menores de 40 años incluidos en el tercer estudio de esta tesis. Curiosamente, el antecedente de HG y una peor percepción a la hipoglucemia fueron los únicos factores de riesgo modificables asociados significativamente con la presencia de placa carotídea en este subgrupo. Además, incluir la puntuación del test de Clarke y el antecedente de HG en la escala de riesgo Steno-Risk dio como

resultado una mejora significativa en la identificación de pacientes jóvenes con mayor carga de placa ( $\geq 2$  placas) y una tendencia hacia una mejor identificación de la aterosclerosis preclínica ( $\geq 1$  placa). Por lo tanto, la hipoglucemia parece tener un impacto considerable en las primeras etapas del desarrollo de la aterosclerosis. Dicha relación podría quedar oculta por la escasez de eventos cardiovasculares en pacientes jóvenes, por la estrecha relación entre el control estricto de la glucemia y la hipoglucemia, así como por la contribución predominante de los factores de riesgo de ECV tradicionales sobre la aterosclerosis.

Los resultados de nuestro proyecto muestran, por lo tanto, una relación independiente entre hipoglucemia y aterosclerosis en la población con DT1. En consecuencia, se pone de manifiesto la necesidad de implementar medidas preventivas de la hipoglucemia en sujetos con exposición crónica a la misma, como programas de educación terapéutica o el uso de la tecnología aplicada a la diabetes.

### **3. Estrategias para la prevención de hipoglucemias mediante el uso de tecnología**

La hipoglucemia sigue siendo un factor limitante importante para alcanzar los objetivos glucémicos óptimos en la DT1 (136). Ante hipoglucemias recurrentes, se recomienda relajar los objetivos glucémicos y seguir un enfoque paso a paso que incluya intervenciones de educación terapéutica y tecnológicas, o incluso de trasplante pancreático para casos refractarios (73,136).

El desarrollo progresivo de la tecnología aplicada a la diabetes, incluyendo la MCG y los sistemas AID, ha propiciado en los últimos años una mejoría notable del control glucémico y una reducción de la exposición a la hipoglucemia en las personas con DT1 (202, 203). Pese a ello, todavía se necesita la evaluación e implementación de nuevas tecnologías para resolver la hipoglucemia recurrente sin deteriorar el control glucémico en un grupo significativo de individuos. La evaluación en vida real de estos nuevos sistemas específicamente en la población con hipoglucemias de repetición también es necesaria (203).

La MCG, tanto la MCG-TR como la MFG, han demostrado en ensayos clínicos aleatorizados (113) y estudios en vida real (116) reducciones significativas de episodios de HG y del tiempo en hipoglucemia. La facilidad de uso y el acceso a un mayor grado de control glucémico, así como la existencia de alarmas y flechas de tendencia, pueden contribuir a un aumento de la calidad de vida y a una disminución de los episodios de hipoglucemia. Por estos motivos, las principales guías de práctica

clínica recomiendan su uso para todos los pacientes con DT1, especialmente para aquellos con hipoglucemia recurrente e hipoglucemia desapercibida (202,203). En consecuencia, algunos sistemas nacionales de salud han iniciado el reembolso público de los sistemas de MFG en esta población. Sin embargo, datos en vida real sobre la eficacia del inicio de la MFG específicamente en pacientes con hipoglucemia recurrente son escasos. Además, tampoco se dispone de información sobre qué pacientes se benefician más con la MFG y cuáles necesitarán una mayor optimización (por ejemplo, sistemas bomba-sensor o sistemas AID).

En el estudio que responde al cuarto objetivo de esta tesis, se evaluó el impacto del inicio de la MFG con financiación pública en pacientes con DT1 en tratamiento con MDI y que presentan hipoglucemias recurrentes, observándose un descenso de las HG, mejoras en la percepción de la hipoglucemia y un aumento de la calidad de vida. Sin embargo, no se evidenció una reducción significativa en la exposición a la hipoglucemia tras el inicio de la MFG. Contrariamente, el estudio IMPACT, el mayor ensayo clínico sobre MFG con 328 pacientes, sí demostró una reducción del 38 % del tiempo en hipoglucemia, sin un empeoramiento del control glucémico en términos de HbA<sub>1c</sub> (113). Pese a eso, dicho estudio estaba restringido a adultos con un buen control glucémico (HbA<sub>1c</sub> ≤ 7,5 %) y una buena percepción a la hipoglucemia. Teniendo en cuenta que tanto un control glucémico subóptimo (HbA<sub>1c</sub> > 9,0 % vs. <7,0 %) como la mala percepción a la hipoglucemia se han relacionado con una mayor incidencia de episodios de HG (204), la muestra seleccionada no era completamente representativa de la población con hipoglucemia recurrente.

En el reciente estudio FLASH-UK (115), que incluía pacientes con DT1 y control subóptimo (HbA<sub>1c</sub> 7,5–11,0 %), la MFG también se asoció con una disminución del tiempo en hipoglucemia. Sin embargo, en este caso se excluyeron pacientes con antecedente de HG y el principal efecto observado fue una mejora en el control glucémico, con una reducción del 0,5 % en la HbA<sub>1c</sub> y un aumento del 9% en el TIR. Curiosamente, cuando dividimos nuestra cohorte según control glucémico previo (estricto vs. subóptimo), obtuvimos efectos similares a los observados en los estudios IMPACT y FLASH-UK (113,115). Los pacientes con un buen control glucémico al inicio redujeron significativamente la exposición a la hipoglucemia, mientras que en aquellos con un control subóptimo se disminuyó principalmente la exposición a la hiperglucemia. Además, tales asociaciones se reafirmaron en el análisis de regresión multivariante, donde el GMI inicial se asoció inversamente con una disminución del tiempo en hipoglucemia, así como directamente con un aumento en el TIR. Así, la ausencia de diferencias glucométricas significativas tras el inicio de la MFG podría

explicarse por la dualidad presente en el grupo de pacientes que experimentan eventos de HG, que incluye tanto pacientes con control estricto y tiempo elevado en hipoglucemia como otros con control subóptimo y que presentan principalmente una alta exposición a la hiperglucemia. De todos modos, ambos subgrupos se beneficiaron de la MFG para prevenir los episodios de HG, independientemente del control glucémico.

La hipoglucemia desapercibida se asocia con tres a seis veces más riesgo de HG y se estima que ocurre en un 20-25 % de los pacientes con DT1 (204). Los resultados de los estudios IMPACT y FLASH-UK (113,115), donde la hipoglucemia desapercibida fue un criterio de exclusión, no se pueden extrapolar a esta población de alto riesgo. Por el contrario, el 47 % de los participantes en nuestro estudio presentaba hipoglucemia desapercibida, observándose un aumento significativo en la percepción tras un año de uso de MFG con alarmas opcionales. En modelos de regresión multivariados, la presencia de hipoglucemia desapercibida se asoció independientemente con una disminución en TBR < 70 tras el uso de MFG. Asimismo, la variabilidad glucémica de base también se asoció directa e independientemente con una disminución del tiempo en hipoglucemia.

Pese a que la MFG con alarmas opcionales fue una herramienta efectiva para prevenir la hipoglucemia grave y mejorar la calidad de vida en personas con DT1 e hipoglucemia recurrente que usan MDI, los objetivos de tiempo en hipoglucemia (TBR < 70 < 4 % y TBR < 54 < 1 %) no fueron alcanzados por el 39 % y el 29 % de los pacientes, respectivamente. Estos resultados enfatizan la necesidad de una mayor optimización del tratamiento en un subgrupo de pacientes para la resolución de la hipoglucemia recurrente.

Los sistemas AID, que automatizan la infusión de la insulina mediante la incorporación de un controlador y la integración de datos de MCG, representan una solución prometedora para este subgrupo de pacientes. Pese a ello, estudios especialmente dirigidos a evaluar el rendimiento de estos sistemas en población con hipoglucemias de repetición son escasos (148). En este sentido, el último estudio que completa este proyecto y que responde al quinto objetivo de la tesis, evaluó el rendimiento y seguridad de un nuevo sistema AID, SAFE-AP, en pacientes con DT1 que presentan hipoglucemias de repetición pese a educación diabetológica y uso de tecnología de la diabetes. El sistema SAFE-AP incluye un controlador proporcional-derivativo personalizado para esta población e integra un recomendador de HC para prevenir episodios de hipoglucemia. Modelos anteriores de este sistema han

demostrado ser efectivos en periodo postprandial (205) y ante ejercicio no anunciado (206), los principales desafíos en el desarrollo de sistemas AID. En el presente proyecto el sistema SAFE-AP logró objetivos glucémicos óptimos sin hipoglucemia significativa en una población con hipoglucemia de repetición, a lo largo de un estudio de 32 horas bajo condiciones exigentes, que incluyeron ejercicio aeróbico intenso no anunciado, comidas y un periodo nocturno posterior al ejercicio.

Puesto que el antecedente de HG y/o hipoglucemia desapercibida suelen ser criterios de exclusión en los ensayos clínicos que evalúan los sistemas AID, su eficacia y seguridad no puede extrapolarse a la población con hipoglucemias de repetición. Por el contrario, la mayoría de los participantes en nuestro estudio habían experimentado una HG en los últimos 2 años y la percepción de la hipoglucemia no estaba conservada en la mayoría de los casos. Aunque el tiempo en hipoglucemia en la glucometría de los últimos 90 días fue relativamente bajo, debe destacarse que los participantes estaban bajo programas educativos estructurados con contacto frecuente con nuestro equipo de diabetes y seguían rutinas para evitar la hipoglucemia. A pesar de esto y del uso de tecnología aplicada a la diabetes (ISCI con MCG o SAP con PLGS), los participantes seguían experimentando con frecuencia episodios de hipoglucemia, sin alcanzar los objetivos glucémicos ( $HbA_{1c} < 7\%$  y los derivados de la glucometría (104)). Además, presentaban un coeficiente de variabilidad notablemente elevado, indicador estrechamente relacionado con la hipoglucemia. Finalmente, la mediana del GRI en la zona de riesgo intermedio (Zona C; clasificada de más baja a más alta: A-E) (107) también indicaba la necesidad de una optimización glucémica adicional.

Durante la duración del estudio, nuestra muestra de individuos propensos a la hipoglucemia mantuvo un control glucémico ajustado (TIR 78,7%), sin hipoglucemia significativa, a pesar de las condiciones exigentes a las que estaban expuestos. Curiosamente, los participantes mantuvieron una baja variabilidad glucémica y la mayoría de ellos (90%) alcanzaron un TIR > 70%. También se observó un bajo riesgo de hipoglucemia e hiperglucemia al evaluar el GRI individual. Además, el sistema SAFE-AP también tuvo un buen rendimiento y fue seguro durante el periodo postprandial, postejercicio, periodo de recuperación y noche después del ejercicio. Este rendimiento con una baja variabilidad glucémica sugiere que la recomendación automática de HC fue útil en la prevención de la hipoglucemia y la evitación de correcciones excesivas en individuos de alto riesgo. Es importante destacar que hubo diferencias notables entre individuos en el número de rescates de HC requeridos para

prevenir la hipoglucemia, indicando que la respuesta glucémica durante y después de la realización de ejercicio físico es muy variable entre sujetos con DT1 (207).

La actividad física es beneficiosa en términos de RCV y control glucémico en la DT1 (51), y la ADA recomienda un mínimo de 150 minutos de ejercicio aeróbico de intensidad moderada a vigorosa por semana (208). Sin embargo, la gestión del ejercicio al utilizar un sistema AID sigue siendo un desafío (164,209), y muchos individuos necesitan salir del modo automático o suspender la infusión de insulina durante el ejercicio aeróbico (165,166). Además, el consumo de HC antes del ejercicio sin anunciar la ingesta puede dar lugar a un aumento posterior en la administración automática de insulina y un riesgo paradójico de hipoglucemia. Algunos sistemas AID tienen la opción de aumentar el objetivo de glucosa e incluso hacer que el algoritmo sea menos agresivo, pero la planificación del ejercicio sigue siendo importante con estas configuraciones (163,210).

En un estudio reciente, el cambio a un sistema AID no mejoró el control glucémico ante ejercicio de intensidad moderada, destacando la necesidad de nuevas estrategias para el manejo glucémico en estos casos (167). En este sentido, nuestro enfoque con sugerencia automatizada de HC fue efectivo y seguro tanto en el ejercicio anunciado como en el no anunciado en un ensayo clínico anterior (206). En el quinto estudio de este proyecto, la inclusión de un recomendador de HC al sistema AID fue evaluado bajo condiciones de ejercicio aeróbico no anunciado en sujetos propensos a la hipoglucemia, describiendo tanto un buen rendimiento como seguridad. Estos resultados se lograron con una mediana de 22,5 (15–45) gramos de HC por persona y sesión de ejercicio, lo cual está dentro de las recomendaciones para la prevención de la hipoglucemia durante el ejercicio en la DT1 considerando la duración y el tipo de actividad (211).

#### **4. Fortalezas, limitaciones y perspectivas de futuro**

Se deben reconocer varias fortalezas y limitaciones en este proyecto. Una de las principales fortalezas es que se ha analizado por primera vez la relación entre ECV y consumo de AG analizado mediante lipidómica (cromatografía de gases) en sujetos con DT1. Los métodos basados en datos auto-informados, que han sido y siguen siendo la medida más común de la exposición a los AG en estudios epidemiológicos, tienen evidentes limitaciones que afectan tanto la precisión como la exactitud de la medición. Asimismo, es la primera vez que se describe una asociación entre hipoglucemia medida por MCG y la presencia de ECV, incluso tras ajustar por potenciales variables de confusión. Además, nuestro proyecto es el primero en mostrar

que la inclusión de variables asociadas a la exposición crónica a la hipoglucemia podría mejorar la estratificación del riesgo cardiovascular en sujetos con DT1. La solidez de los resultados de los tres primeros estudios radica en la calidad de los datos recopilados cuidadosamente y la inclusión de factores de confusión en los análisis multivariados, incluyendo los principales factores de riesgo cardiovascular y la carga glucémica. Finalmente, la evaluación de múltiples variables asociadas a la exposición a la hipoglucemia, tanto derivadas de la MCG como auto-reportadas, también reduce el riesgo de sesgo en nuestros resultados.

Otra de las principales fortalezas de nuestro proyecto es que evalúa el uso de tecnología aplicada a la diabetes con el objetivo de reducir la exposición a la hipoglucemia específicamente en el subgrupo con hipoglucemias de repetición. En este sentido, el cuarto trabajo de esta tesis es el primero en analizar los beneficios en vida real obtenidos con la MFG en este subgrupo de pacientes y bajo financiación pública. Además, la mayoría de los datos de este estudio se recogieron prospectivamente y la solidez de nuestros resultados también radica en la inclusión de factores de confusión en los análisis multivariados para evaluar las características asociadas con el éxito de la intervención. Asimismo, pone de manifiesto que, pese al beneficio demostrado de la MFG, una mayor optimización del tratamiento sigue siendo necesaria para evitar la hipoglucemia en un subgrupo de personas con DT1 e hipoglucemias de repetición. En este sentido, el quinto estudio de nuestro proyecto es uno de los primeros en evaluar un sistema AID en individuos con DT1 e hipoglucemias de repetición, no resueltas pese a educación diabetológica y uso de tecnología aplicada a la diabetes (148,161). Además, a pesar de evaluar únicamente 28 horas consecutivas, incluyó condiciones especialmente exigentes, como dos sesiones de ejercicio no anunciadas, un periodo nocturno posterior al ejercicio y cuatro comidas con 50-60 g de HC. Hasta donde sabemos, este es el primer estudio que evalúa la eficacia de un sistema AID en torno al ejercicio físico en esta población. Además de reducir la carga mental del paciente al eliminar la necesidad de anunciar el ejercicio con antelación, el ser seguro y efectivo ante esta situación podría resultar crucial para un sistema HCL dirigido a sujetos con tendencia a la hipoglucemia. Finalmente, la inclusión de la recomendación de HC puede ser útil para optimizar tanto el momento como la cantidad de HC necesarios durante el ejercicio.

En cuanto a las limitaciones de este proyecto, cabe destacar que los estudios que lo componen han sido realizados en una Unidad de Diabetes altamente especializada en el tratamiento avanzado de la DT1 de un hospital de referencia, por lo que podrían no ser aplicables en otros ámbitos. Debido a su naturaleza y diseño

transversal, los hallazgos de los tres primeros estudios tampoco permiten establecer causalidad en el desarrollo de aterosclerosis. Además, a pesar de ser un predictor independiente de eventos cardiovasculares (32), la evaluación de placas carotídeas mediante ecografía es una variable subrogada, y los eventos cardiovasculares deberían evaluarse en estudios prospectivos a largo plazo adicionales. Asimismo, respecto al primer estudio no se evaluaron datos dietéticos distintos de los AG y no se analizaron algunas potenciales variables de confusión como el nivel socioeconómico o la educación. Finalmente, respecto al segundo y tercer estudio, cabe señalar que la hipoglucemia y la variabilidad glucémica están fuertemente correlacionadas y, debido al diseño de ambos estudios, no se pueden establecer sus efectos independientes.

En cuanto al cuarto estudio que compone esta tesis, los datos glucométricos iniciales se obtuvieron durante los primeros 14 días de uso del sensor, lo que implica que los pacientes ya estaban utilizando datos de MFG y alarmas opcionales durante ese período. Esta es una limitación del diseño del estudio y el impacto completo de la MFG podría haber sido subestimado. Además, el impacto de la configuración de las alarmas no pudo ser específicamente evaluado.

Respecto a las limitaciones del quinto trabajo, éste fue un estudio piloto sin grupo control, incluyó un tamaño de muestra pequeño y se realizó en un entorno hospitalario bien controlado. El conteo de HC fue preciso y las dosis de insulina no se omitieron ni retrasaron. En consecuencia, no se pueden obtener conclusiones sobre la superioridad con respecto a otras terapias ni sobre la seguridad y eficacia a largo plazo. La mayoría de los parámetros del controlador se mantuvieron iguales en todos los participantes para generalizar la configuración y hacerla lo más simple posible; solo las ganancias del controlador se individualizaron según la insulina diaria total del tratamiento en lazo abierto de los participantes. En vida real, los parámetros de control deberían individualizarse aún más para cada participante específico y adaptarse para optimizar el rendimiento y mejorar la seguridad. Debido a la corta duración y la naturaleza exploratoria de este estudio, no fue posible abordar este problema.

Finalmente, por lo que respecta a perspectivas futuras, nuestro trabajo pone de relieve la importancia de la evaluación de factores emergentes asociados a la ECV en la DT1, incluyendo cohortes de mayor tamaño y otras poblaciones, con el fin de reducir el elevado RCV asociado a la enfermedad. En este sentido, sería de interés la evaluación del impacto prospectivo de patrones dietéticos asociados a una ingesta rica en grasas saludables, como la dieta mediterránea, sobre el desarrollo de ECV en la población con DT1. Asimismo, considerando los potenciales efectos perjudiciales a

nivel cardiovascular asociados a la hipoglucemia, resulta necesaria la evaluación específica de los nuevos sistemas AID en materia de prevención de hipoglucemias y en el subgrupo con hipoglucemias de repetición. Por este motivo, sería de interés la evaluación de la seguridad y eficacia del sistema AID SAFE-AP mediante estudios a largo plazo y aleatorizados, en pacientes ambulatorios y con un tamaño de muestra más grande.





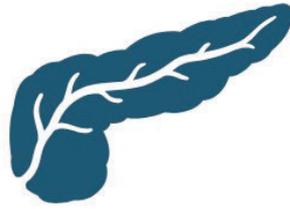
# CONCLUSIONES

---



1. La composición de ácidos grasos en membrana eritrocitaria, como marcador de su consumo en la dieta, se asocia independientemente con la presencia de aterosclerosis preclínica en sujetos con diabetes tipo 1. Estos resultados respaldan el beneficio de mantener un perfil saludable de grasas en la dieta para la prevención de la aterosclerosis. La integración de la terapia nutricional en el manejo de la diabetes tipo 1 puede resultar crucial para disminuir el riesgo cardiovascular residual en esta población de alto riesgo.
2. El tiempo en hipoglucemia medido por monitorización continua de glucosa y otros marcadores de exposición crónica a la hipoglucemia (peor percepción de la hipoglucemia y el antecedente de hipoglucemia grave) se relacionan independientemente con la presencia de aterosclerosis preclínica en personas con diabetes tipo 1. Además, la inclusión de variables asociadas a la hipoglucemia en la escala de riesgo *Steno T1 Risk Engine* mejora la identificación de individuos con placa carotídea. Estos resultados enfatizan la necesidad de implementar medidas preventivas de la hipoglucemia en sujetos con hipoglucemia recurrente, como programas de educación terapéutica o el uso de tecnología aplicada a la diabetes.
3. La monitorización *flash* de la glucosa puede ser una herramienta efectiva para prevenir hipoglucemias graves y mejorar la calidad de vida de pacientes con diabetes tipo 1 e hipoglucemia recurrente que usan múltiples dosis de insulina. Sin embargo, tiene un impacto diferencial en los resultados glucométricos según el control glucémico previo: los pacientes con control glucémico estricto mejoran el tiempo en hipoglucemia, mientras que aquellos con un control subóptimo ven disminuida la exposición a la hiperglucemia. Pese a la reducción de las hipoglucemias graves tras un año de uso de la monitorización *flash* de la glucosa, los objetivos de tiempo en hipoglucemia no son fáciles de alcanzar en más de un tercio de los pacientes. Esto nos hace pensar en la necesidad de una mayor optimización del tratamiento en un subgrupo de pacientes con el fin de resolver la hipoglucemia recurrente.
4. El sistema de administración automática de insulina basado en el algoritmo de control SAFE-AP y diseñado para proteger contra la hipoglucemia, tiene un buen rendimiento y es seguro incluso bajo condiciones exigentes (ejercicio físico no anunciado) en sujetos con diabetes tipo 1 e hipoglucemias de repetición no resueltas pese a programas de educación terapéutica estructurada y el uso de tecnologías avanzadas para la diabetes. El sistema logra alcanzar los objetivos glucémicos sin aumentar el riesgo de hipoglucemia en esta particular población.





# BIBLIOGRAFÍA

---



1. Katsarou A, Gudbjörnsdóttir S, Rawshani A, Dabelea D, Bonifacio E, Anderson BJ, et al. Type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:1–18.
2. Diaz-Valencia PA, Bougnères P, Valleron AJ. Global epidemiology of type 1 diabetes in young adults and adults: a systematic review. *BMC Public Health*. 2015;15(1):255.
3. Patterson CC, Harjutsalo V, Rosenbauer J, Neu A, Cinek O, Skrivarhaug T, et al. Trends and cyclical variation in the incidence of childhood type 1 diabetes in 26 European centres in the 25 year period 1989–2013: a multicentre prospective registration study. *Diabetologia*. 2019;62(3):408–17.
4. 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;328:1167–72.
5. Writing Team for the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Sustained effect of intensive treatment of type 1 diabetes mellitus on development and progression of diabetic nephropathy: the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) study. *JAMA*. 2003;290(16):2159–67.
6. Hegele RA, Maltman GM. Insulin's centenary: the birth of an idea. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2020;8(12):971–7.
7. Ruiz PLD, Chen L, Morton JI, Salim A, Carstensen B, Gregg EW, et al. Mortality trends in type 1 diabetes: a multicountry analysis of six population-based cohorts. *Diabetologia*. 2022;65(6):964–72.
8. Livingstone SJ, Levin D, Looker HC, Lindsay RS, Wild SH, Joss N, et al. estimated life expectancy in a Scottish cohort with type 1 diabetes, 2008-2010. *JAMA*. 2015 Jan 6;313(1):37.
9. Rawshani A, Sattar N, Franzén S, Rawshani A, Hattersley AT, Svensson AM, et al. Excess mortality and cardiovascular disease in young adults with type 1 diabetes in relation to age at onset: a nationwide, register-based cohort study. *The Lancet*. 2018;392(10146):477–86.
10. Amor AJ, Cabrer M, Giménez M, Vinagre I, Ortega E, Conget I. Situación clínica de una cohorte de pacientes con diabetes tipo 1 más de 2 décadas después del inicio. Resultados de un programa específico de seguimiento en una unidad de referencia. *Endocrinología y Nutrición*. 2016;63(7):339–44.
11. Garofolo M, Galdani E, Giannarelli R, Aragona M, Campi F, Lucchesi D, et al. Microvascular complications burden (nephropathy, retinopathy and peripheral polyneuropathy) affects risk of major vascular events and all-cause mortality in type 1 diabetes: a 10-year follow-up study. *Cardiovasc Diabetol*. 2019;18(1):159.
12. Sabanayagam C, Banu R, Chee ML, Lee R, Wang YX, Tan G, et al. Incidence and progression of diabetic retinopathy: a systematic review. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2019;7(2):140–9.
13. Raile K, Galler A, Hofer S, Herbst A, Dunstheimer D, Busch P, et al. Diabetic nephropathy in 27,805 children, adolescents, and adults with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2007;30(10):2523–8.

14. The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) study research group. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 2005;353(25):2643–53.
15. Orchard TJ, Nathan DM, Zinman B, Cleary P, Brillon D, Backlund JYC, et al. Association between 7 years of intensive treatment of type 1 diabetes and long-term mortality. *JAMA*. 2015;313(1):45.
16. Rawshani A, Rawshani A, Franzén S, Eliasson B, Svensson AM, Miftaraj M, et al. Mortality and cardiovascular disease in type 1 and type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2017;376(15):1407–18.
17. Harjutsalo V, Barlovic DP, Gordin D, Forsblom C, King G, Groop PH. Presence and determinants of cardiovascular disease and mortality in individuals with type 1 diabetes of long duration: The FinnDiane 50 years of diabetes study. *Diabetes Care*. 2021;44(8):1885–93.
18. Ahmadi A, Argulian E, Leipsic J, Newby DE, Narula J. From Subclinical atherosclerosis to plaque progression and acute coronary events: JACC State-of-the-Art review. *J Am Coll Cardiol*. 2019;74(12):1608–17.
19. Libby P, Buring JE, Badimon L, Hansson GK, Deanfield J, Bittencourt MS, et al. Atherosclerosis. *Nat Rev Dis Primers*. 2019;5(1):56.
20. Blaha MJ, Abdelhamid M, Santilli F, Shi Z, Sibbing D. Advanced subclinical atherosclerosis: A novel category within the cardiovascular risk continuum with distinct treatment implications. *Am J Prev Cardiol*. 2023;13:100456.
21. Giménez-Pérez G, Viñals C, Mata-Cases M, Vlachos B, Real J, Franch-Nadal J, et al. Epidemiology of the first-ever cardiovascular event in people with type 1 diabetes: a retrospective cohort population-based study in Catalonia. *Cardiovasc Diabetol*. 2023;22(1):1–10.
22. Gimenez-Perez G, Franch-Nadal J, Ortega E, Mata-Cases M, Goday A, Real J, et al. Clinical characteristics and degree of glycemic and cardiovascular risk factor control in patients with type 1 diabetes in Catalonia (Spain). *J Clin Med*. 2021;10(7):1–11.
23. Marx N, Federici M, Schütt K, Müller-Wieland D, Ajjan RA, Antunes MJ, et al. 2023 ESC Guidelines for the management of cardiovascular disease in patients with diabetes. *Eur Heart J*. 2023;44(39):4043–140.
24. Lind M, Svensson AM, Kosiborod M, Gudbjörnsdóttir S, Pivodic A, Wedel H, et al. Glycemic control and excess mortality in type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 2014;371(21):1972–82.
25. Riddle MC, Gerstein HC. The cardiovascular legacy of good glycemic control: Clues about mediators from the DCCT/EDIC study. *Diabetes Care*. 2019;42(7):1159–61.
26. Bebu I, Braffett BH, Orchard TJ, Lorenzi GM, Lachin JM. mediation of the effect of glycemia on the risk of CVD outcomes in type 1 diabetes: The DCCT/EDIC study. *Diabetes Care*. 2019;42(7):1284–9.

27. McGurnaghan SJ, McKeigue PM, Read SH, Franzen S, Svensson AM, Colombo M, et al. Development and validation of a cardiovascular risk prediction model in type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2021;64(9):2001–11.
28. Cederholm J, Eeg-Olofsson K, Eliasson B, Zethelius B, Gudbjörnsdóttir S. A new model for 5-year risk of cardiovascular disease in type 1 diabetes; from the Swedish National Diabetes Register (NDR). *Diabet Med*. 2011;28(10):1213–20.
29. Vistisen D, Andersen GS, Hansen CS, Hulman A, Henriksen JE, Bech-Nielsen H, et al. Prediction of first cardiovascular disease event in type 1 diabetes mellitus the steno type 1 risk engine. *Circulation*. 2016;133(11):1058–66.
30. Serés-Noriega T, Giménez M, Perea V, Boswell L, Viñals C, Blanco J, et al. Use of the Steno T1 Risk Engine identifies preclinical atherosclerosis better than use of ESC/EASD-2019 in adult subjects with type 1 diabetes at high risk. *Diabetes Care*. 2022;45(10):2412–21.
31. Boswell L, Serés-Noriega T, Mesa A, Perea V, Pané A, Viñals C, et al. Carotid ultrasonography as a strategy to optimize cardiovascular risk management in type 1 diabetes: a cohort study. *Acta Diabetol*. 2022;59(12):1563–74.
32. Baber U, Mehran R, Sartori S, Schoos MM, Sillesen H, Muntendam P, et al. Prevalence, impact, and predictive value of detecting subclinical coronary and carotid atherosclerosis in asymptomatic adults: The bioimage study. *J Am Coll Cardiol*. 2015;65(11):1065–74.
33. Katakami N, Matsuoka TA, Shimomura I. Clinical utility of carotid ultrasonography: Application for the management of patients with diabetes. *J Diabetes Investig*. 2019;10(4):883–98.
34. Näslund U, Ng N, Lundgren A, Fhärm E, Grönlund C, Johansson H, et al. Visualization of asymptomatic atherosclerotic disease for optimum cardiovascular prevention (VIPVIZA): a pragmatic, open-label, randomised controlled trial. *The Lancet*. 2019;393(10167):133–42.
35. Amor AJ, Hollanda AM De, Yago G, Ara P. Prevalencia y control de los factores de riesgo cardiovascular en pacientes con diabetes mellitus tipo 1 candidatos a trasplante renopancreático entre los años 1999 y 2010. *Av Diabetol*. 2011;27(4):137–42.
36. Vergès B. Cardiovascular disease in type 1 diabetes: A review of epidemiological data and underlying mechanisms. *Diabetes Metab*. 2020;46(6):442–49.
37. Lachin JM, Orchard TJ, Nathan DM. Update on cardiovascular outcomes at 30 years of the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study. *Diabetes Care*. 2014;37(1):39–43.
38. Miller RG, Costacou T, Orchard TJ. Risk factor modeling for cardiovascular disease in type 1 diabetes in the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications (EDC) study: A comparison with the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complication. *Diabetes*. 2019;68(2):409–19.
39. Livingstone SJ, Looker HC, Hothersall EJ, Wild SH, Lindsay RS, Chalmers J, et al. Risk of cardiovascular disease and total mortality in adults with type 1 diabetes: Scottish registry linkage study. *PLoS Med*. 2012;9(10):e1001321.

40. Maahs DM, Ogden LG, Dabelea D, Snell-Bergeon JK, Daniels SR, Hamman RF, et al. Association of glycaemia with lipids in adults with type 1 diabetes: Modification by dyslipidaemia medication. *Diabetologia*. 2010;53(12):2518–25.
41. Elsayed NA, Aleppo G, Aroda VR, Bannuru RR, Brown FM, Bruemmer D, et al. 10. Cardiovascular disease and risk management: standards of care in diabetes—2023. *Diabetes Care*. 2023;46(January):S158–90.
42. Koivisto VA, Stevens IK, Mattock M, Ebeling P, Muggeo M, Stephenson J, et al. Cardiovascular disease and its risk factors in IDDM in Europe. *Diabetes Care*. 1996;19(7):689–97.
43. Vergès B. Dyslipidemia in type 1 diabetes: a masked danger. *Trends Endocrinol Metab*. 2020;31(6):422-34.
44. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaborators. Efficacy of cholesterol-lowering therapy in 18 686 people with diabetes in 14 randomised trials of statins: a meta-analysis. *The Lancet*. 2008;371(9607):117–25.
45. Vissersen FLJ, MacH F, Smulders YM, Carballo D, Koskinas KC, Bäck M, et al. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J*. 2021;42(34):3227–337.
46. Evert AB, Dennison M, Gardner CD, Garvey WT, Lau KHK, MacLeod J, et al. Nutrition therapy for adults with diabetes or prediabetes: A consensus report. *Diabetes Care*. 2019;42(5):731–54.
47. Granado-Casas M, Ramírez-Morros A, Martín M, Real J, Alonso N, Valldeperas X, et al. Type 1 diabetic subjects with diabetic retinopathy show an unfavorable pattern of fat intake. *Nutrients*. 2018;10(9):1–10.
48. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet supplemented with extra-virgin olive oil or nuts. *N Engl J Med*. 2018;378(25):1–14.
49. De Souza RJ, Mente A, Maroleanu A, Cozma AI, Ha V, Kishibe T, et al. Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: Systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ*. 2015;351:1–16.
50. Snell-Bergeon JK, Chartier-Logan C, Maahs DM, Ogden LG, Hokanson JE, Kinney GL, et al. Adults with type 1 diabetes eat a high-fat atherogenic diet that is associated with coronary artery calcium. *Diabetologia*. 2009;52(5):801–9.
51. Bohn B, Herbst A, Pfeifer M, Krakow D, Zimny S, Kopp F, et al. Impact of physical activity on glycemic control and prevalence of cardiovascular risk factors in adults with type 1 diabetes: A cross-sectional multicenter study of 18,028 patients. *Diabetes Care*. 2015;38(8):1536–43.
52. Tikkanen-Dolenc H, Wadén J, Forsblom C, Harjutsalo V, Thorn LM, Saraheimo M, et al. Physical activity reduces risk of premature mortality in patients with type 1 diabetes with and without kidney disease. *Diabetes Care*. 2017;40(12):1727–32.
53. Tielemans SMAJ, Soedamah-Muthu SS, De Neve M, Toeller M, Chaturvedi N, Fuller JH, et al. Association of physical activity with all-cause mortality and

- incident and prevalent cardiovascular disease among patients with type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetologia*. 2013;56(1):82–91.
54. Åman J, Skinner T, de Beaufort C, Swift P, Aanstoot HJ, Cameron F. Associations between physical activity, sedentary behavior, and glycemic control in a large cohort of adolescents with type 1 diabetes: the Hvidoere Study Group on Childhood Diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2009;10(4):234–9.
  55. Teupe B, Bergis K. Epidemiological evidence for ‘double diabetes’. *The Lancet*. 1991;337(8737):361–2.
  56. Van der Schueren B, Ellis D, Faradji RN, Al-Ozairi E, Rosen J, Mathieu C. Obesity in people living with type 1 diabetes. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2021;9(11):776–85.
  57. Orchard TJ, Olson JC, Erbey JR, Williams K, Forrest KYZ, Smithline Kinder L, et al. Insulin resistance–related factors, but not glycemia, predict coronary artery disease in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2003;26(5):1374–9.
  58. Thorn LM, Forsblom C, Wadén J, Saraheimo M, Tolonen N, Hietala K, et al. Metabolic syndrome as a risk factor for cardiovascular disease, mortality, and progression of diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2009;32(5):950–2.
  59. Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *The Lancet*. 2010;375(9709):132–40.
  60. Schalkwijk CG, Poland DCW, van Dijk W, Kok A, Emeis JJ, Dräger AM, et al. Plasma concentration of C-reactive protein is increased in Type I diabetic patients without clinical macroangiopathy and correlates with markers of endothelial dysfunction: evidence for chronic inflammation. *Diabetologia*. 1999;42(3):351–7.
  61. 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.
  62. Gottumukkala RV, Lv H, Cornivelli L, Wagers AJ, Kwong RY, Bronson R, et al. Myocardial Infarction Triggers Chronic Cardiac Autoimmunity in Type 1 Diabetes. *Sci Transl Med*. 2012;4(138):138ra80.
  63. Sousa GR, Pober D, Galderisi A, Lv H, Yu L, Pereira AC, et al. Glycemic control, cardiac autoimmunity, and long-term risk of cardiovascular disease in type 1 diabetes mellitus. *Circulation*. 2019;139(6):730–43.
  64. Maran A, Morieri ML, Falaguasta D, Avogaro A, Fadini GP. The fast-glycator phenotype, skin advanced glycation end products, and complication burden among people with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2022;45(10):2439–44.
  65. Hoffman RP, Dye AS, Huang H, Bauer JA. Glycemic variability predicts inflammation in adolescents with type 1 diabetes. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2016;29(10):1129–33.

66. Valente T, Valente F, Lucchesi MBB, Punaro GR, Mouro MG, Gabbay MAL, et al. Relationship between short and long-term glycemic variability and oxidative stress in type 1 diabetes mellitus under daily life insulin treatment. *Arch Endocrinol Metab.* 2021;65(5):570–8.
67. Benalia M, Zeller M, Mouhat B, Guenancia C, Yameogo V, Greco C, et al. Glycaemic variability is associated with severity of coronary artery disease in patients with poorly controlled type 2 diabetes and acute myocardial infarction. *Diabetes Metab.* 2019;45(5):446–52.
68. Su G, Mi SH, Tao H, Li Z, Yang HX, Zheng H, et al. Impact of admission glycemic variability, glucose, and glycosylated hemoglobin on major adverse cardiac events after acute myocardial infarction. *Diabetes Care.* 2013;36(4):1026–32.
69. Snell-Bergeon JK, Roman R, Rodbard D, Garg S, Maahs DM, Schauer IE, et al. Glycaemic variability is associated with coronary artery calcium in men with type 1 diabetes: the Coronary Artery Calcification in Type 1 Diabetes study. *Diabet Med.* 2010;27(12):1436–42.
70. Hagelqvist PG, Andersen A, Maytham K, Andreasen CR, Engberg S, Lindhardt TB, et al. Glycaemia and cardiac arrhythmias in people with type 1 diabetes: A prospective observational study. *Diabetes Obes Metab.* 2023;25(8):2300–9.
71. Gimenez M, Tannen AJ, Reddy M, Moscardo V, Conget I, Oliver N. Revisiting the relationships between measures of glycemic control and hypoglycemia in continuous glucose monitoring data sets. *Diabetes Care.* 2018;41(2):326–32.
72. Weinstock RS, Xing D, Maahs DM, Michels A, Rickels MR, Peters AL, et al. Severe hypoglycemia and diabetic ketoacidosis in adults with type 1 diabetes: Results from the T1D exchange clinic registry. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(8):3411–9.
73. Choudhary P, Rickels MR, Senior PA, Vantighem MC, Maffi P, Kay TW, et al. Evidence-informed clinical practice recommendations for treatment of type 1 diabetes complicated by problematic hypoglycemia. *Diabetes Care.* 2015;38(6):1016–29.
74. Pinés Corrales PJ, Arias Lozano C, Jiménez Martínez C, López Jiménez LM, Sirvent Segovia AE, García Blasco L, et al. Prevalence of severe hypoglycemia in a cohort of patients with type 1 diabetes. *Endocrinol Diabetes Nutr.* 2021;68(1):47–52.
75. Joy NG, Hedrington MS, Briscoe VJ, Tate DB, Ertl AC, Davis SN. Effects of Acute hypoglycemia on inflammatory and pro-atherothrombotic biomarkers in individuals with type 1 diabetes and healthy individuals. *Diabetes Care.* 2010;33(7):1529–35.
76. Joy NG, Tate DB, Younk LM, Davis SN. Effects of acute and antecedent hypoglycemia on endothelial function and markers of atherothrombotic balance in healthy humans. *Diabetes.* 2015;64(7):2571–80.
77. Giménez M, Gilabert R, Monteagudo J, Alonso A, Casamitjana R, Paré C, et al. Repeated episodes of hypoglycemia as a potential aggravating factor for

- preclinical atherosclerosis in subjects with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2011;34(1):198–203.
78. Verhulst CEM, van Heck JIP, Fabricius TW, Stienstra R, Teerenstra S, McCrimmon RJ, et al. Hypoglycaemia induces a sustained pro-inflammatory response in people with type 1 diabetes and healthy controls. *Diabetes Obes Metab*. 2023;03976271:3114–24.
  79. Bonds DE, Miller ME, Bergenstal RM, Buse JB, Byington RP, Cutler JA, et al. The association between symptomatic, severe hypoglycaemia and mortality in type 2 diabetes: Retrospective epidemiological analysis of the ACCORD study. *BMJ* 2010;340(7738):137.
  80. Fährmann ER, Adkins L, Loader CJ, Han H, Rice KM, Denvir J, et al. Severe hypoglycemia and coronary artery calcification during the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications (DCCT/EDIC) study. *Diabetes Res Clin Pract*. 2015;107(2):280–9.
  81. Fahrman ER, Adkins L, Driscoll HK. Modification of the association between severe hypoglycemia and ischemic heart disease by surrogates of vascular damage severity in type 1 diabetes during ~30 years of follow-up in the DCCT/EDIC Study. *Diabetes Care*. 2021;44(9):2132–9.
  82. Giménez M, López JJ, Castell C, Conget I. Hypoglycaemia and cardiovascular disease in type 1 diabetes. Results from the Catalan National Public Health registry on insulin pump therapy. *Diabetes Res Clin Pract*. 2012;96(2):e23–5.
  83. Khunti K, Davies M, Majeed A, Thorsted BL, Wolden ML, Paul SK. Hypoglycemia and risk of cardiovascular disease and all-cause mortality in insulin-treated people with type 1 and type 2 diabetes: A cohort study. *Diabetes Care*. 2015;38(2):316–22.
  84. Gruden G, Barutta F, Chaturvedi N, Schalkwijk C, Stehouwer CD, Witte DR, et al. Severe Hypoglycemia and cardiovascular disease incidence in type 1 diabetes: The EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetes Care*. 2012;35(7):1598–604.
  85. Sämann A, Mühlhauser I, Bender R, Hunger-Dathe W, Kloos C, Müller UA. Flexible intensive insulin therapy in adults with type 1 diabetes and high risk for severe hypoglycemia and diabetic ketoacidosis. *Diabetes Care*. 2006;29(10):2196–9.
  86. Hopkins D, Lawrence I, Mansell P, Thompson G, Amiel S, Campbell M, et al. Improved biomedical and psychological outcomes 1 year after structured education in flexible insulin therapy for people with type 1 diabetes: the U.K. DAFNE experience. *Diabetes Care*. 2012;35(8):1638–42.
  87. Rosenstock J, Dailey G, Massi-Benedetti M, Fritsche A, Lin Z, Salzman A. Reduced Hypoglycemia Risk With Insulin Glargine. *Diabetes Care*. 2005;28(4):950–5.
  88. Ratner RE, Hirsch IB, Neifing JL, Garg SK, Mecca TE, Wilson CA. Less hypoglycemia with insulin glargine in intensive insulin therapy for type 1 diabetes. U.S. Study group of insulin glargine in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2000;23(5):639–43.

89. DeWitt DE, Hirsch IB. Outpatient insulin therapy in type 1 and type 2 diabetes mellitus. *JAMA*. 2003;289(17):2254.
90. Foster NC, Beck RW, Miller KM, Clements MA, Rickels MR, DiMeglio LA, et al. State of type 1 diabetes management and outcomes from the T1D Exchange in 2016–2018. *Diabetes Technol Ther*. 2019;21(2):66–72.
91. McKnight JA, Wild SH, Lamb MJE, Cooper MN, Jones TW, Davis EA, et al. Glycaemic control of Type 1 diabetes in clinical practice early in the 21st century: an international comparison. *Diabet Med*. 2015;32(8):1036–50.
92. Fatourehchi MM, Kudva YC, Murad MH, Elamin MB, Tabini CC, Montori VM. Clinical review: Hypoglycemia with intensive insulin therapy: a systematic review and meta-analyses of randomized trials of continuous subcutaneous insulin infusion versus multiple daily injections. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(3):729–40.
93. Pickup JC, Sutton AJ. Severe hypoglycaemia and glycaemic control in type 1 diabetes: meta-analysis of multiple daily insulin injections compared with continuous subcutaneous insulin infusion. *Diabet Med*. 2008;25(7):765–74.
94. 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;(1):CD005103.
95. Quirós C, Giménez M, Ríos P, Careaga M, Roca D, Vidal M, et al. Long-term outcome of insulin pump therapy: reduction of hypoglycaemia and impact on glycaemic control. *Diabet Med*. 2016;33(10):1422–6.
96. Karges B, Schwandt A, Heidtmann B, Kordonouri O, Binder E, Schierloh U, et al. Association of insulin pump therapy vs insulin injection therapy with severe hypoglycemia, ketoacidosis, and glycemic control among children, adolescents, and young adults with type 1 diabetes. *JAMA*. 2017;318(14):1358–66.
97. Jeyam A, Gibb FW, McKnight JA, Kennon B, O'Reilly JE, Caparrotta TM, et al. Marked improvements in glycaemic outcomes following insulin pump therapy initiation in people with type 1 diabetes: a nationwide observational study in Scotland. *Diabetologia*. 2021;64(6):1320–31.
98. Steineck I, Cederholm J, Eliasson B, Rawshani A, Eeg-Olofsson K, Svensson AM, et al. Insulin pump therapy, multiple daily injections, and cardiovascular mortality in 18 168 people with type 1 diabetes: Observational study. *BMJ*. 2015;350:h3234.
99. Reid LJ, Gibb FW, Colhoun H, Wild SH, Strachan MWJ, Madill K, et al. Continuous subcutaneous insulin infusion therapy is associated with reduced retinopathy progression compared with multiple daily injections of insulin. *Diabetologia*. 2021;64(8):1725–36.
100. Gómez-Peralta F, Menéndez E, Conde S, Conget I, Novials A. Clinical characteristics and management of type 1 diabetes in Spain. The SED1 study. *Endocrinol Diabetes Nutr*. 2021;68(9):642–53.
101. Choudhary P, Campbell F, Joule N, Kar P. A type 1 diabetes technology pathway: consensus statement for the use of technology in type 1 diabetes. *Diabet Med*. 2019;36(5):531–8.

102. Choudhary P, Kolassa R, Keuthage W, Kroeger J, Thivolet C, Evans M, et al. Advanced hybrid closed loop therapy versus conventional treatment in adults with type 1 diabetes (ADAPT): a randomised controlled study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2022;10(10):720–31.
103. Skyler JS. Continuous glucose monitoring: an overview of its development. *Diabetes Technol Ther.* 2009;11 Suppl 1:S5-10.
104. Battelino T, Danne T, Bergenstal RM, Amiel SA, Beck R, Biester T, et al. Clinical targets for continuous glucose monitoring data interpretation: Recommendations from the international consensus on time in range. *Diabetes Care.* 2019;42(8):1593–603.
105. Beck RW, Bergenstal RM, Cheng P, Kollman C, Carlson AL, Johnson ML, et al. The relationships between time in range, hyperglycemia metrics, and HbA1c. *J Diabetes Sci Technol.* 2019;13(4):614–26.
106. El Malahi A, Van Elsen M, Charleer S, Dirinck E, Ledeganck K, Keymeulen B, et al. Relationship between time in range, glycemic variability, hba1c, and complications in adults with type 1 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2022;107(2):e570–81.
107. Klonoff DC, Wang J, Rodbard D, Kohn MA, Li C, Liepmann D, et al. A glycemia risk index (gri) of hypoglycemia and hyperglycemia for continuous glucose monitoring validated by clinician ratings. *J Diabetes Sci Technol.* 2022;1–17.
108. Beck RW, Riddlesworth T, Ruedy K, Ahmann A, Bergenstal R, Haller S, et al. Effect of continuous glucose monitoring on glycemic control in adults with type 1 diabetes using insulin injections the diamond randomized clinical trial. *JAMA.* 2017;317(4):371-8.
109. Lind M, Polonsky W, Hirsch IB, Heise T, Bolinder J, Dahlqvist S, et al. Continuous glucose monitoring vs conventional therapy for glycemic control in adults with type 1 diabetes treated with multiple daily insulin injections. The GOLD Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2017;317(4):379–87.
110. van Beers CAJ, DeVries JH, Kleijer SJ, Smits MM, Geelhoed-Duijvestijn PH, Kramer MHH, et al. Continuous glucose monitoring for patients with type 1 diabetes and impaired awareness of hypoglycaemia (IN CONTROL): a randomised, open-label, crossover trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016;4(11):893–902.
111. Heinemann L, Freckmann G, Ehrmann D, Faber-Heinemann G, Guerra S, Waldenmaier D, et al. Real-time continuous glucose monitoring in adults with type 1 diabetes and impaired hypoglycaemia awareness or severe hypoglycaemia treated with multiple daily insulin injections (HypoDE): a multicentre, randomised controlled trial. *The Lancet.* 2018;391(10128):1367–77.
112. Oskarsson P, Antuna R, Geelhoed-Duijvestijn P, Kröger J, Weitgasser R, Bolinder J. Impact of flash glucose monitoring on hypoglycaemia in adults with type 1 diabetes managed with multiple daily injection therapy: a pre-specified subgroup analysis of the IMPACT randomised controlled trial. *Diabetologia.* 2018;61(3):539–50.

113. Bolinder J, Antuna R, Geelhoed-Duijvestijn P, Kröger J, Weitgasser R. Novel glucose-sensing technology and hypoglycaemia in type 1 diabetes: a multicentre, non-masked, randomised controlled trial. *The Lancet*. 2016;388(10057):2254–63
114. Pettus JH, Zhou FL, Shepherd L, Preblich R, Hunt PR, Paranjape S, et al. Incidences of severe hypoglycemia and diabetic ketoacidosis and prevalence of microvascular complications stratified by age and glycemic control in U.S. adult patients with type 1 diabetes: A real-world study. *Diabetes Care*. 2019;42(12):2220–7.
115. Leelarathna L, Evans ML, Neupane S, et al. Intermittently scanned continuous glucose monitoring for type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 2022;387(16):1477–87.
116. Deshmukh H, Wilmot EG, Gregory R, Barnes D, Narendran P, Saunders S, et al. Effect of flash glucose monitoring on glycemic control, hypoglycemia, diabetes-related distress, and resource utilization in the Association of British Clinical Diabetologists (ABCD) nationwide audit. *Diabetes Care*. 2020;43(9):2153–60.
117. Nathanson D, Svensson AM, Miftaraj M, Franzén S, Bolinder J, Eeg-Olofsson K. Effect of flash glucose monitoring in adults with type 1 diabetes: a nationwide, longitudinal observational study of 14,372 flash users compared with 7691 glucose sensor naive controls. *Diabetologia*. 2021;64(7):1595–603.
118. Charleer S, De Block C, Van Huffel L, Broos B, Fieuws S, Nobels F, et al. Quality of life and glucose control after 1 year of nationwide reimbursement of intermittently scanned continuous glucose monitoring in adults living with type 1 diabetes (FUTURE): A prospective observational real-world cohort study. *Diabetes Care*. 2020;43(2):389–97.
119. Charleer S, Mathieu C, Nobels F, De Block C, Radermecker RP, Hermans MP, et al. Effect of continuous glucose monitoring on glycemic control, acute admissions, and quality of life: A real-world study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2018;103(3):1224–32.
120. Gomez-Peralta F, Dunn T, Landuyt K, Xu Y, Merino-Torres JF. Flash glucose monitoring reduces glycemic variability and hypoglycemia: real-world data from Spain. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2020;8(1):e001052.
121. Roussel R, Riveline JP, Vicaut E, de Pouvourville G, Detournay B, Emery C, et al. Important Drop in Rate of Acute Diabetes Complications in People With Type 1 or Type 2 Diabetes After Initiation of Flash Glucose Monitoring in France: The RELIEF Study. *Diabetes Care*. 2021;44(6):1368–76.
122. Hásková A, Radovnická L, Petruželková L, Parkin CG, Grunberger G, Horová E, et al. Real-time CGM is superior to flash glucose monitoring for glucose control in type 1 diabetes: The CORRIDA randomized controlled trial. *Diabetes Care*. 2020;43(11):2744–50.
123. Visser MM, Charleer S, Fieuws S, De Block C, Hilbrands R, Van Huffel L, et al. Comparing real-time and intermittently scanned continuous glucose monitoring in adults with type 1 diabetes (ALERTT1): a 6-month, prospective, multicentre, randomised controlled trial. *Lancet*. 2021;397(10291):2275–83.

124. Reddy M, Jugnee N, Anantharaja S, Oliver N. Switching from flash glucose monitoring to continuous glucose monitoring on hypoglycemia in adults with type 1 diabetes at high hypoglycemia risk: The extension phase of the I HART CGM Study. *Diabetes Technol Ther.* 2018;20(11):751–7.
125. 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: the RealTrend study. *Diabetes Care.* 2009;32(12):2245–50.
126. Beck RW, Riddlesworth TD, Ruedy KJ, Kollman C, Ahmann AJ, Bergenstal RM, et al. Effect of initiating use of an insulin pump in adults with type 1 diabetes using multiple daily insulin injections and continuous glucose monitoring (DIAMOND): a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2017;5(9):700–8.
127. Battelino T, Conget I, Olsen B, Schütz-Fuhrmann I, Hommel E, Hoogma R, et al. The use and efficacy of continuous glucose monitoring in type 1 diabetes treated with insulin pump therapy: a randomised controlled trial. *Diabetologia.* 2012;55(12):3155–62.
128. Charleer S, De Block C, Nobels F, Radermecker RP, Lowyck I, Mullens A, et al. Sustained impact of real-time continuous glucose monitoring in adults with type 1 diabetes on insulin pump therapy: results after the 24-month RESCUE Study. *Diabetes Care.* 2020;43(12):3016–23.
129. Šoupal J, Petruželková L, Grunberger G, Hásková A, Flekač M, Matoulek M, et al. Glycemic Outcomes in adults with t1d are impacted more by continuous glucose monitoring than by insulin delivery method: 3 years of follow-up from the COMISAIR study. *Diabetes Care.* 2020;43(1):37–43.
130. Moreno-Fernandez J, Pazos-Couselo M, González-Rodríguez M, Rozas P, Delgado M, Aguirre M, et al. Clinical value of flash glucose monitoring in patients with type 1 diabetes treated with continuous subcutaneous insulin infusion. *Endocrinol Diabetes Nutr.* 2018;65(10):556–63.
131. Bergenstal RM, Klonoff DC, Garg SK, Bode BW, Meredith M, Slover RH, et al. Threshold-based insulin-pump interruption for reduction of hypoglycemia. *N Engl J Med.* 2013;369(3):224–32.
132. Ly TT, Nicholas JA, Retterath A, Lim EM, Davis EA, Jones TW. Effect of sensor-augmented insulin pump therapy and automated insulin suspension vs standard insulin pump therapy on hypoglycemia in patients with type 1 diabetes: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2013;310(12):1240–7.
133. Forlenza GP, Li Z, Buckingham BA, Pinsker JE, Cengiz E, Wadwa RP, et al. Predictive low-glucose suspend reduces hypoglycemia in adults, adolescents, and children with type 1 diabetes in an at-home randomized crossover study: results of the PROLOG Trial. *Diabetes Care.* 2018;41(10):2155–61.
134. Beato-Víborá PI, Quirós-López C, Lázaro-Martín L, Martín-Frías M, Barrio-Castellanos R, Gil-Poch E, et al. Impact of sensor-augmented pump therapy with predictive low-glucose suspend function on glycemic control and patient satisfaction in adults and children with type 1 diabetes. *Diabetes Technol Ther.* 2018;20(11):738–43.

135. Bosi E, Choudhary P, de Valk HW, Lablanche S, Castañeda J, de Portu S, et al. Efficacy and safety of suspend-before-low insulin pump technology in hypoglycaemia-prone adults with type 1 diabetes (SMILE): an open-label randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2019;7(6):462–72.
136. Elsayed NA, Aleppo G, Aroda VR, Bannuru RR, Brown FM, Bruemmer D, et al. 6. Glycemic targets: Standards of care in diabetes—2023. *Diabetes Care*. 2023;46(January):S97–110.
137. McAuley SA, Lee MH, Paldus B, Vogrin S, De Bock MI, Abraham MB, et al. Six months of hybrid closed-loop versus manual insulin delivery with fingerprick blood glucose monitoring in adults with type 1 diabetes: A randomized controlled trial. *Diabetes Care*. 2020;43(12):3024–33.
138. Stone MP, Agrawal P, Chen X, Liu M, Shin J, Cordero TL, et al. Retrospective analysis of 3-month real-world glucose data after the Minimed 670G system commercial launch. *Diabetes Technol Ther*. 2018;20(10):689–92.
139. Lal RA, Basina M, Maahs DM, Hood K, Buckingham B, Wilson DM. One year clinical experience of the first commercial hybrid closed-loop system. *Diabetes Care*. 2019;42(12):2190–6.
140. Collyns OJ, Meier RA, Betts ZL, Chan DSH, Frampton C, Frewen CM, et al. Improved glycemic outcomes with medtronic minimed advanced hybrid closed-loop delivery: Results from a randomized crossover trial comparing automated insulin delivery with predictive low glucose suspend in people with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2021;44(4):969–75.
141. Bergenstal RM, Nimri R, Beck RW, Criego A, Laffel L, Schatz D, et al. A comparison of two hybrid closed-loop systems in adolescents and young adults with type 1 diabetes (FLAIR): a multicentre, randomised, crossover trial. *The Lancet*. 2021;397(10270):208–19.
142. Silva JD, Lepore G, Battelino T, Arrieta A, Castañeda J, Grossman B, et al. Real-world performance of the MiniMed™ 780G system: First report of outcomes from 4120 users. *Diabetes Technol Ther*. 2022;24(2):113–9.
143. Brown SA, Kovatchev BP, Raghinaru D, Lum JW, Buckingham BA, Kudva YC, et al. Six-Month randomized, multicenter trial of closed-loop control in type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 2019;381(18):1707–17.
144. Breton MD, Kovatchev BP. One year real-world use of the Control-IQ advanced hybrid closed-loop technology. *Diabetes Technol Ther*. 2021;23(9):601–8.
145. Benhamou PY, Franc S, Reznik Y, Thivolet C, Schaepelynck P, Renard E, et al. Closed-loop insulin delivery in adults with type 1 diabetes in real-life conditions: a 12-week multicentre, open-label randomised controlled crossover trial. *Lancet Digit Health*. 2019;1(1):e17–25.
146. Chico A, Navas De Solís S, Lainez M, Rius F, Cuesta M. Efficacy, Safety, and Satisfaction with the Accu-Chek Insight with diabeloop closed-loop system in subjects with type 1 diabetes: A Multicenter real-world study. *Diabetes Technol Ther*. 2023;25(4):242–9.
147. Amadou C, Franc S, Benhamou PY, Lablanche S, Huneker E, Charpentier G, et al. Diabeloop DBLG1 closed-loop system enables patients with type 1 diabetes

- to significantly improve their glycemic control in real-life situations without serious adverse events: 6-month follow-up. *Diabetes Care*. 2021;44(3):844–6.
148. Benhamou PY, Lablanche S, Vambergue A, Doron M, Franc S, Charpentier G. Patients with highly unstable type 1 diabetes eligible for islet transplantation can be managed with a closed-loop insulin delivery system: A series of N-of-1 randomized controlled trials. *Diabetes Obes Metab*. 2021;23(1):186–94.
  149. Tauschmann M, Thabit H, Bally L, Allen JM, Hartnell S, Wilinska ME, et al. Closed-loop insulin delivery in suboptimally controlled type 1 diabetes: a multicentre, 12-week randomised trial. *The Lancet*. 2018;392(10155):1321–9.
  150. Boughton CK, Hartnell S, Thabit H, Mubita WM, Draxlbauer K, Poettler T, et al. Hybrid closed-loop glucose control compared with sensor augmented pump therapy in older adults with type 1 diabetes: an open-label multicentre, multinational, randomised, crossover study. *Lancet Healthy Longev*. 2022;3(3):e135–42.
  151. Ware J, Allen JM, Boughton CK, Wilinska ME, Hartnell S, Thankamony A, et al. Randomized trial of closed-loop control in very young children with type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 2022;386(3):209–19.
  152. Lee TTM, Collett C, Bergford S, Hartnell S, Scott EM, Lindsay RS, et al. Automated insulin delivery in women with pregnancy complicated by type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 2023;389(17):1566-78
  153. Brown SA, Forlenza GP, Bode BW, Pinsky JE, Levy CJ, Criego AB, et al. Multicenter trial of a tubeless, on-body automated insulin delivery system with customizable glycemic targets in pediatric and adult participants with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2021;44(7):1630-40.
  154. Braune K, Lal RA, Petruželková L, Scheiner G, Winterdijk P, Schmidt S, et al. Open-source automated insulin delivery: international consensus statement and practical guidance for health-care professionals. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2022;10(1):58–74.
  155. Burnside MJ, Lewis DM, Crockett HR, Meier RA, Williman JA, Sanders OJ, et al. Open-Source automated insulin delivery in type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 2022;387(10):869–81.
  156. Knoll C, Peacock S, Wäldchen M, Cooper D, Aulakh SK, Raile K, et al. Real-world evidence on clinical outcomes of people with type 1 diabetes using open-source and commercial automated insulin dosing systems: A systematic review. *Diabet Med*. 2022;39(5):1–16.
  157. Moon SJ, Jung I, Park CY. Current advances of artificial pancreas systems: A comprehensive review of the clinical evidence. *Diabetes Metab J*. 2021;45(6):813-39.
  158. Beato-Víborá PI, Chico A, Moreno-Fernandez J, Bellido-Castañeda V, Nattero-Chávez L, Picón-César MJ, et al. A multicenter prospective evaluation of the benefits of two advanced hybrid closed-loop systems in glucose control and patient-reported outcomes in a real-world setting. *Diabetes Care*. 2024;47(2):216-24.

159. Russell SJ, Beck RW, Damiano ER, El-Khatib FH, Ruedy KJ, Balliro CA, et al. Multicenter, randomized trial of a bionic pancreas in type 1 diabetes. *N Engl J Med.* 2022;387(13):1161–72.
160. Flatt AJ, Peleckis AJ, Dalton-Bakes C, Nguyen H Ian, Ilany S, Matus A, et al. Automated insulin delivery for hypoglycemia avoidance and glucose counterregulation in long-standing type 1 diabetes with hypoglycemia unawareness. *Diabetes Technol Ther.* 2023;25(5):1–13.
161. Anderson SM, Buckingham BA, Breton MD, Robic JL, Barnett CL, Wakeman CA, et al. Hybrid closed-loop control is safe and effective for people with type 1 diabetes who are at moderate to high risk for hypoglycemia. *Diabetes Technol Ther.* 2019;21(6):356–63.
162. Burckhardt MA, Abraham MB, Dart J, Smith GJ, Paramalingam N, O’Dea J, et al. Impact of hybrid closed loop therapy on hypoglycemia awareness in individuals with type 1 diabetes and impaired hypoglycemia awareness. *Diabetes Technol Ther.* 2021;23(7):482–90.
163. Zaharieva DP, Messer LH, Paldus B, O’Neal DN, Maahs DM, Riddell MC. Glucose control during physical activity and exercise using closed loop technology in adults and adolescents with type 1 diabetes. *Can J Diabetes.* 2020;44(8):740–9.
164. Riddell MC, Li Z, Gal RL, Calhoun P, Jacobs PG, Clements MA, et al. Examining the acute glycemic effects of different types of structured exercise sessions in type 1 diabetes in a real-world setting: The Type 1 Diabetes and Exercise Initiative (T1DEXI). *Diabetes Care.* 2023;46(4):704-713.
165. Boughton CK, Hartnell S, Allen JM, Fuchs J, Hovorka R. Training and support for hybrid closed-loop therapy. *J Diabetes Sci Technol.* 2022;16(1):218-23.
166. Gargallo-Fernández MA, Tejera-Pérez C, Escalada-San Martin J. Demographic and clinical characteristics of a Spanish population of people living with type 1 diabetes who practice nonprofessional sports: The DIABESPORT. *Diabetes Res Clin Pract.* 2022;193:110137.
167. McCarthy OM, Christensen MB, Kristensen KB, Schmidt S, Ranjan AG, Bain SC, et al. Glycaemia around exercise in adults with type 1 diabetes using automated and non-automated insulin delivery pumps: A switch pilot trial. *Diabetes Technol Ther.* 2023;25(4):1–6.
168. Amigó J, Ortiz-Zúñiga Á, de Urbina AMO, Sánchez M, Dos-Santos M, Abad M, et al. Switching from treatment with sensor augmented pump to hybrid closed loop system in type 1 diabetes: Impact on glycemic control and neuropsychological tests in the real world. *Diabetes Res Clin Pract.* 2023;201:110730.
169. Giménez M, Conget I, Oliver N. Automated insulin delivery systems: today, tomorrow and user requirements. *J Diabetes Sci Technol.* 2021;15(6):1252–7.
170. Peters TM, Haidar A. Dual-hormone artificial pancreas: benefits and limitations compared with single-hormone systems. *Diabet Med.* 2018;35(4):450–9
171. Castellanos LE, Balliro CA, Sherwood JS, Jafri R, Hillard MA, Greaux E, et al. Performance of the insulin-only ilet bionic pancreas and the bihormonal ilet using

- dasiglucagon in adults with type 1 diabetes in a home-use setting. *Diabetes Care*. 2021;44(6):e118–20.
172. Blauw H, van Bon AC, Koops R, DeVries JH. Performance and safety of an integrated bihormonal artificial pancreas for fully automated glucose control at home. *Diabetes Obes Metab*. 2016;18(7):671–7.
  173. Jancev M, Snoek FJ, Frederix GWJ, Knottnerus H, Blauw H, Witkop M, et al. Dual hormone fully closed loop in type 1 diabetes: a randomised trial in the Netherlands - study protocol. *BMJ Open*. 2023;13(8):1–6.
  174. Hieronymus L, Griffin S. Role of amylin in type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Educ*. 2015 Dec 30;41(1\_suppl):47S-56S.
  175. Haidar A, Tsoukas MA, Bernier-Twardy S, Yale JF, Rutkowski J, Bossy A, et al. A novel dual-hormone insulin- and-pramlintide artificial pancreas for type 1 diabetes: A randomized controlled crossover trial. *Diabetes Care*. 2020;43(3):597–606.
  176. Tsoukas MA, Majdpour D, Yale JF, Fathi A EI, Garfield N, Rutkowski J, et al. A fully artificial pancreas versus a hybrid artificial pancreas for type 1 diabetes: a single-centre, open-label, randomised controlled, crossover, non-inferiority trial. *Lancet Digit Health*. 2021;3(11):e723–32.
  177. Cowie MR, Fisher M. SGLT2 inhibitors: mechanisms of cardiovascular benefit beyond glycaemic control. *Nat Rev Cardiol*. 2020;17(12):761–72.
  178. Haidar A, Lovblom LE, Cardinez N, Gouchie-Provencher N, Orszag A, Tsoukas MA, et al. Empagliflozin add-on therapy to closed-loop insulin delivery in type 1 diabetes: a 2×2 factorial randomized crossover trial. *Nat Med*. 2022;28(6):1269–76.
  179. Biester T, Muller I, von dem Berge T, Atlas E, Nimri R, Phillip M, et al. Add-on therapy with dapagliflozin under full closed loop control improves time in range in adolescents and young adults with type 1 diabetes: The DAPADream study. *Diabetes Obes Metab*. 2021;23(2):599–608.
  180. Granado-Casas M, Alcubierre N, Martín M, Real J, Ramírez-Morros AM, Cuadrado M, et al. Improved adherence to Mediterranean diet in adults with type 1 diabetes mellitus. *Eur J Nutr*. 2019;58(6):2271–9.
  181. Innes JK, Calder PC. Omega-6 fatty acids and inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2018;132:41–8.
  182. Steffen BT, Guan W, Stein JH, Tattersall MC, Kaufman JD, Sandfort V, et al. Plasma n-3 and n-6 fatty acids are differentially related to carotid plaque and its progression: The multi-ethnic study of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2018;38(3):653–9.
  183. Ding D, Zhong QW, Zuo LS, Ling CW, Xiong F, Ke YB, et al. Association between erythrocyte membrane n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids and carotid atherosclerosis: A prospective study. *Atherosclerosis*. 2020;298:7–13.
  184. Marklund M, Wu JHY, Imamura F, Del Gobbo LC, Fretts A, De Goede J, et al. Biomarkers of dietary omega-6 fatty acids and incident cardiovascular disease

- and mortality: An individual-level pooled analysis of 30 cohort studies. *Circulation*. 2019;139(21):2422–36.
185. Borges MC, Schmidt AF, Jefferis B, Wannamethee SG, Lawlor DA, Kivimaki M, et al. Circulating fatty acids and risk of coronary heart disease and stroke: Individual participant data meta-analysis in up to 16,126 participants. *J Am Heart Assoc*. 2020;9(5):e013131.
  186. Li J, Guasch-Ferré M, Li Y, Hu FB. Dietary intake and biomarkers of linoleic acid and mortality: systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Am J Clin Nutr*. 2020;112(1):150–67.
  187. Sacks FM, Lichtenstein AH, Wu JHY, Appel LJ, Creager MA, Kris-Etherton PM, et al. Dietary fats and cardiovascular disease: A presidential advisory from the American Heart Association. *Circulation*. 2017;136(3):e1–23.
  188. Michas G, Micha R, Zampelas A. Dietary fats and cardiovascular disease: Putting together the pieces of a complicated puzzle. *Atherosclerosis*. 2014;234(2):320–8.
  189. Liang J, Zhou Q, Kwame Amakye W, Su Y, Zhang Z. Biomarkers of dairy fat intake and risk of cardiovascular disease: A systematic review and meta analysis of prospective studies. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2018;58(7):1122–30.
  190. Herreras Z, Cofán M, Catalan M, Calvo C, Pinyol M, Amor AJ, et al. The proportion of total C18:1 trans -fatty acids in red blood cell membranes relates to carotid plaque prevalence. *J Nutr Biochem*. 2016;38:81–5.
  191. Del Gobbo LC, Imamura F, Aslibekyan S, Marklund M, Virtanen JK, Wennberg M, et al.  $\omega$ -3 Polyunsaturated fatty acid biomarkers and coronary heart disease: Pooling project of 19 cohort studies. *JAMA Intern Med*. 2016;176(8):1155–66.
  192. Sekikawa A, Curb JD, Ueshima H, El-Saed A, Kadowaki T, Abbott RD, et al. Marine-derived n-3 fatty acids and atherosclerosis in Japanese, Japanese-American, and white men. A cross-sectional study. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(6):417–24.
  193. Sala-Vila A, Cofán M, Pérez-Heras A, Núñez I, Gilabert R, Junyent M, et al. Fatty acids in serum phospholipids and carotid intima-media thickness in Spanish subjects with primary dyslipidemia. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2010;92(1):186–93.
  194. Saadatian-Elahi M, Slimani N, Chajès V, Jenab M, Goudable J, Biessy C, et al. Plasma phospholipid fatty acid profiles and their association with food intakes: results from a cross-sectional study within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Am J Clin Nutr*. 2009;89(1):331–46.
  195. Sala-Vila A, Harris WS, Cofán M, Pérez-Heras AM, Pintó X, Lamuela-Raventós RM, et al. Determinants of the omega-3 index in a Mediterranean population at increased risk for CHD. *Br J Nutr*. 2011;106(3):425–31.
  196. O'Mahoney LL, Dunseath G, Churm R, Holmes M, Boesch C, Stavropoulos-Kalinoglou A, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation versus placebo on vascular health, glycaemic control, and metabolic parameters in people with type 1 diabetes: a randomised controlled preliminary trial. *Cardiovasc Diabetol*. 2020;19(1):127.

197. Bhatt DL, Steg PG, Miller M, Brinton EA, Jacobson TA, Ketchum SB, et al. Cardiovascular risk reduction with icosapent ethyl for hypertriglyceridemia. *N Engl J Med*. 2019;380(1):11–22.
198. Stahn A, Pistrosch F, Ganz X, Teige M, Koehler C, Bornstein S, et al. Relationship between hypoglycemic episodes and ventricular arrhythmias in patients with type 2 diabetes and cardiovascular diseases: silent hypoglycemia and silent arrhythmias. *Diabetes Care*. 2014;37(2):516–20.
199. Standl E, Stevens SR, Armstrong PW, Buse JB, Chan JCN, Green JB, et al. Increased risk of severe hypoglycemic events before and after cardiovascular outcomes in TECOS suggests an at-risk type 2 diabetes frail patient phenotype. *Diabetes Care*. 2018;41(3):596–603.
200. Lu CL, Shen HN, Hu SC, Wang J Der, Li CY. A population-based study of all-cause mortality and cardiovascular disease in association with prior history of hypoglycemia among patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2016;39(9):1571–8.
201. Blonde L, Umpierrez GE, Reddy SS, McGill JB, Berga SL, Bush M, et al. American Association of Clinical Endocrinology clinical practice guideline: Developing a diabetes mellitus comprehensive care plan—2022 update. *Endocrine Practice*. 2022;28(10):923–1049.
202. Elsayed NA, Aleppo G, Aroda VR, Bannuru RR, Brown FM, Bruemmer D et al. 7. Diabetes technology: Standards of care in diabetes—2023. *Diabetes Care*. 2023;46(Sup):S111–27.
203. Mccall AL, Lieb DC, Gianchandani R, Macmaster H, Maynard GA, Murad MH, et al. Management of individuals with diabetes at high risk for hypoglycemia: An Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2023;108(3):529-562.
204. Kaur J, Seaquist ER. Hypoglycaemia in type 1 diabetes mellitus: risks and practical prevention strategies. *Nat Rev Endocrinol*. 2023;19(3):177-186.
205. Rossetti P, Quirós C, Moscardó V, Comas A, Giménez M, Ampudia-Blasco FJ, et al. Closed-loop control of postprandial glycemia using an insulin-on-board limitation through continuous action on glucose target. *Diabetes Technol Ther*. 2017;19(6):355–62.
206. Viñals C, Beneyto A, Martín-Sanjose JF, Furió-Novejarque C, Bertachi A, Bondia J, et al. Artificial pancreas with carbohydrate suggestion performance for unannounced and announced exercise in type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2021;106(1):55–63.
207. Sherr JL, Bergford S, Gal RL, Calhoun P, Jacobs PG, Clements MA, et al. Exploring factors that influence postexercise glycemia in youth with type 1 diabetes in the real world: The Type 1 Diabetes Exercise Initiative Pediatric Study (T1DEXIP). *Diabetes Care*. 2024 Feb 27:dc232212.
208. American Diabetes Association Professional Practice Committee. 5. Facilitating behavior change and well-being to improve health outcomes: Standards of medical care in diabetes—2022. *Diabetes Care*. 2022;45(Suppl 1):S60–82.

209. Zaharieva DP, Morrison D, Paldus B, Lal RA, Buckingham BA, O'Neal DN. Practical aspects and exercise safety benefits of automated insulin delivery systems in type 1 diabetes. *Diabetes Spectrum*. 2023;36(2):127–36.
210. Myette-Coté É, Molveau J, Wu Z, Raffray M, Devaux M, Tagougui S, et al. A randomized crossover pilot study evaluating glucose control during exercise initiated 1 or 2 h after a meal in adults with type 1 diabetes treated with an automated insulin delivery system. *Diabetes Technol Ther*. 2023;25(2):122–30.
211. Moser O, Riddell MC, Eckstein ML, Adolfsson P, Rabasa-Lhoret R, van den Boom L, et al. Glucose management for exercise using continuous glucose monitoring (CGM) and intermittently scanned CGM (isCGM) systems in type 1 diabetes: position statement of the EASD and of the ISPAD endorsed by JDRF and supported by the ADA. *Diabetologia*. 2020;63(12):2501-2520.

“Louis, I think this is the beginning of a beautiful friendship”