



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

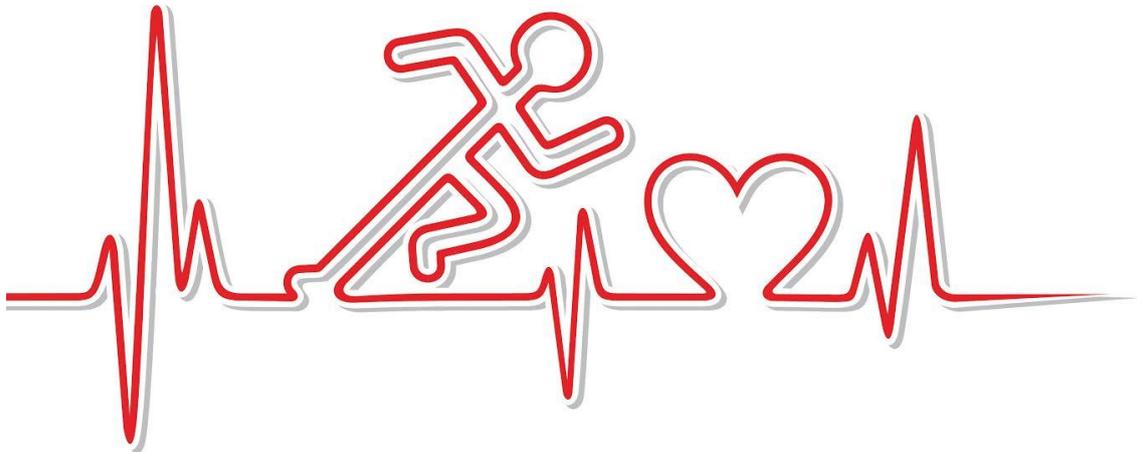


Universitat Autònoma de Barcelona

TESIS DOCTORAL

ATEROSCLEROSIS SILENTE EN LA DIABETES TIPO 1

PREVALENCIA Y PERFIL DE RIESGO



**Cristina Colom Comi**

Directores de tesis

Antonio Pérez Pérez, Ana Isabel Chico Ballesteros y

Alberto De Leiva Hidalgo

Programa de Doctorado en Medicina

Departamento de Medicina. Facultad de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

2016



**Universitat Autònoma de Barcelona**

**TESIS DOCTORAL**

**TÍTULO: ATEROSCLEROSIS SILENTE EN LA DIABETES TIPO 1**

**PREVALENCIA Y PERFIL DE RIESGO**

**Cristina Colom Comi**

**2016**

**Directores de tesis**

**Antonio Pérez Pérez, Ana Isabel Chico Ballesteros y**

**Alberto De Leiva Hidalgo**

**Universitat Autònoma de Barcelona 2016**

**Programa de Doctorado en Medicina**

**Departamento de Medicina. Facultad de Medicina**



**Universitat Autònoma de Barcelona**

**TESIS DOCTORAL**

**TÍTULO: ATEROSCLEROSIS SILENTE EN LA DIABETES TIPO 1**

**PREVALENCIA Y PERFIL DE RIESGO**

**Cristina Colom Comi**

**2016**

**Directores de tesis**

**Antonio Pérez Pérez, Ana Isabel Chico Ballesteros y**

**Alberto De Leiva Hidalgo**

Servicio de Endocrinología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina. Instituto de Salud Carlos III (CIBER-BBN). Centro de Investigación Biomédica en Red en Diabetes y Enfermedades Metabólicas (CIBERDEM). Universitat Autònoma de Barcelona.

# 1 AGRADECIMIENTOS

A todas las personas que han hecho posible la realización de este trabajo, empezando por los ex residentes de Sant Pau que participaron durante su paso por el servicio en la recogida de información de este perfil tan especial de pacientes. A Anna mi “co-R”, que pasó innumerables tardes conmigo en los sótanos del hospital descifrando las antiguas historias clínicas en papel e introduciendo datos, y que a pesar de separarnos al acabar la residencia ha seguido apoyándome, tanto moral como con sus conocimientos de medicina, estadística e informática. A Inka mi “R pequeña” que también me ha ayudado en este proyecto, apoyándome en los momentos más difíciles y animándome a seguir adelante.

A los compañeros de cardiología: Rubén Leta, David Viladés y Abdel-hakim Moustafa, sin cuya colaboración y aportación en lo referente a su campo no hubiese sido posible la realización de este estudio.

A los compañeros de cirugía vascular: Begoña Soto y Efrén Gómez que han entregado su tiempo voluntariamente para la realización de las ecografías.

A los compañeros de bioquímica: José Luis Sánchez y Montse Pérez que han contribuido con su trabajo y conocimientos a la investigación.

A las personas que me han ayudado con la estadística, empezando por Ignasi J. Gich, Mónica Gasulla y Cristina Baeza, así como Anna Aulinas, Gemma Carreras y Juan.

A mis directores de tesis y en especial a Toni, que ha hecho posible a pesar de las dificultades y demoras, el desarrollo y finalización de la tesis y me ha dado ánimos, consejos y recursos para llegar hasta el final.

A los pacientes que han participado, ofreciendo su tiempo para completar todas las pruebas, sin los cuales hubiese sido imposible el desarrollo de este trabajo.

A mis amigos tanto de Barcelona como de Coruña, quienes se han cansado de oírme hablar de la tesis, me han rescatado en los momentos de frustración, y me han respetado y entendido cuando he faltado a otros compromisos por completar el trabajo. A Fer que me ha ayudado y dado el último empujón en la recta final. A mis padres y a mi hermana porque aunque no se lo digo muy a menudo, sin su apoyo no habría podido llegar hasta aquí.

## ÍNDICE

<b>1</b>	<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>ABREVIATURAS .....</b>	<b>10</b>
<b>3</b>	<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>12</b>
<b>3.1</b>	<b>Epidemiología de la enfermedad cardiovascular en los pacientes con diabetes tipo 1 .....</b>	<b>13</b>
	<b>3.1.1 Prevalencia e incidencia de la aterosclerosis clínica .....</b>	<b>13</b>
	<b>3.1.2 Prevalencia e incidencia de la aterosclerosis subclínica .....</b>	<b>17</b>
<b>3.2</b>	<b>Fisiopatología: factores de riesgo de la enfermedad cardiovascular en la diabetes tipo 1 .....</b>	<b>21</b>
	<b>3.2.1 Hiperglucemia.....</b>	<b>21</b>
	<b>3.2.2 Hipoglucemia .....</b>	<b>23</b>
	<b>3.2.3 Síndrome metabólico: resistencia a la insulina, dislipemia, hipertensión e inflamación .....</b>	<b>24</b>
	<b>3.2.4 Enfermedad renal .....</b>	<b>27</b>
<b>4</b>	<b>HIPÓTESIS .....</b>	<b>29</b>
<b>5</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>30</b>
<b>6</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>32</b>
<b>6.1</b>	<b>Población de estudio .....</b>	<b>32</b>
<b>6.2</b>	<b>Recogida de datos y métodos.....</b>	<b>32</b>

6.2.1	Revisión de la historia clínica y visita del estudio .....	32
6.2.2	Diagnóstico de complicaciones tardías .....	33
6.2.3	Diagnóstico de factores de riesgo cardiovascular .....	34
6.3	Determinaciones analíticas .....	35
6.3.1	Determinaciones bioquímicas estandarizadas .....	35
6.3.2	Determinaciones bioquímicas específicas.....	36
6.4	Estudio radiológico .....	38
6.4.1	Estudio con tomografía coputarizada multidetectora de las arterias coronarias .....	38
6.4.2	Estudio con ecografía doppler de troncos supra aórticos y femorales.....	39
6.5	Metodología estadística .....	41
6.5.1	Análisis estadístico para definir la presencia de lesiones en la tomografía computarizada multidetectora.....	43
6.5.2	Análisis estadístico para la evaluación del índice de volumen de grasa epicárdica.....	44
7	RESULTADOS.....	46
7.1	Población de estudio: características clínicas y control evolutivo.....	46
7.1.1	Características generales de la población de estudio.....	46
7.1.2	Evolución del control glucémico, índice de masa corporal y parámetros lipídicos desde el diagnóstico de la diabetes.....	48

7.1.3	Prevalencia de complicaciones crónicas.....	51
7.2	Prevalencia de la aterosclerosis subclínica. ....	53
7.3	Determinación de las variables analíticas en la visita del estudio.....	54
7.3.1	Control glucémico, perfil lipídico, función hepática y marcadores de inflamación .....	54
7.3.2	Propiedades biológicas y físico-químicas que modulan la capacidad antiaterogénica de las lipoproteínas de alta densidad .....	56
7.4	Comparación de los pacientes con y sin aterosclerosis subclínica .....	58
7.4.1	Pacientes con y sin aterosclerosis subclínica evaluada mediante la tomografía computarizada multidetectora.....	58
7.4.2	Pacientes con y sin aterosclerosis subclínica evaluada mediante la ecografía-doppler.....	66
7.4.3	Relación del índice de tejido adiposo epicárdico con el control glucémico, factores de riesgo cardiovascular, marcadores de inflamación y las propiedades y composición de las lipoproteínas de alta densidad.....	76
7.4.4	Anexos .....	81
8	DISCUSIÓN.....	91
8.1	Control glucémico y prevalencia de factores de riesgo cardiovascular .....	91
8.2	Prevalencia de complicaciones micro y macrovasculares .....	96
8.3	Prevalencia de aterosclerosis subclínica .....	99

8.3.1	Prevalencia de aterosclerosis subclínica a nivel coronario .....	99
8.3.2	Prevalencia de aterosclerosis subclínica a nivel carotideo, femoral y poplíteo.....	101
8.4	Factores asociados a aterosclerosis subclínica .....	102
8.4.1	Factores asociados a aterosclerosis subclínica coronaria .....	102
8.4.2	Factores asociados a aterosclerosis subclínica carotidea, femoral y poplíteo.....	109
8.5	Factores asociados al tejido adiposo epicárdico en diabetes tipo 1 .....	111
9	CONCLUSIONES .....	117
10	BIBLIOGRAFÍA .....	119

## 2 ABREVIATURAS

- ADA: American Diabetes Association.
- Apo: apolipoproteína.
- CAC: índice de calcificación coronaria o score cálcico.
- DCCT/EDIC: Diabetes Control and Complications Trial /Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications study.
- DM1: diabetes mellitus tipo 1.
- DM2: diabetes mellitus tipo 2.
- EDC: Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications study.
- GIM: grosor de la íntima media.
- GPRD: General Practice Research Database.
- HbA<sub>1c</sub>: hemoglobina glucosilada.
- HDL: lipoproteínas de alta densidad.
- IDF: Internacional Diabetes Federation.
- iEAT: índice de tejido adiposo epicárdico.
- IL6: interleucina 6.
- IL10: interleucina 10.
- IMC: índice de masa corporal.
- LDL: lipoproteínas de baja densidad.
- Lp-PLA2 o PAF AH: actividad fosfolipasa A2 asociada a lipoproteínas o “platelet activating factor acetyl-hydrolase”.
- NEFAS: ácidos grasos no esterificados.
- PCR: proteína C reactiva.
- PON1: actividad paraoxonasa 1.

- P75: percentil 75.
- TC: tomografía computarizada.
- TCMD: tomografía computarizada multidetectora.
- TGF- $\beta$ : factor de crecimiento transformante beta.
- VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad.
- WESDR: Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy.

### 3 INTRODUCCIÓN

Los individuos con diabetes mellitus tipo 1 (DM1) presentan un riesgo elevado de desarrollar cualquier tipo de evento cardiovascular en comparación con la población general. La enfermedad vascular y en especial la cardiopatía isquémica, representa la principal causa de muerte en los pacientes con DM1, siendo al menos 10 veces superior a la de los sujetos sin diabetes de la misma edad (1)(2)(3)(4)(5). La prevalencia de isquemia coronaria en ausencia de síntomas también es superior en los pacientes con DM1 respecto a los individuos sin diabetes, oscilando según las series entre 9 y 57% (6)(7). Además, comparados con la población general, los eventos cardiovasculares y muertes se producen a una edad relativamente joven en los pacientes con DM1, especialmente en las mujeres (8).

A pesar de la relevancia de la enfermedad cardiovascular en la DM1, la fisiopatología subyacente a la relación entre los eventos cardiovasculares y la DM1 es poco conocida y el enfoque para la reducción de las enfermedades cardiovasculares se ha extrapolado en gran parte de la experiencia en la diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Todo ello subraya la necesidad de determinar las intervenciones más adecuadas para la prevención, así como las estrategias para la detección precoz y tratamiento óptimo de la enfermedad cardiovascular en la población con DM1.

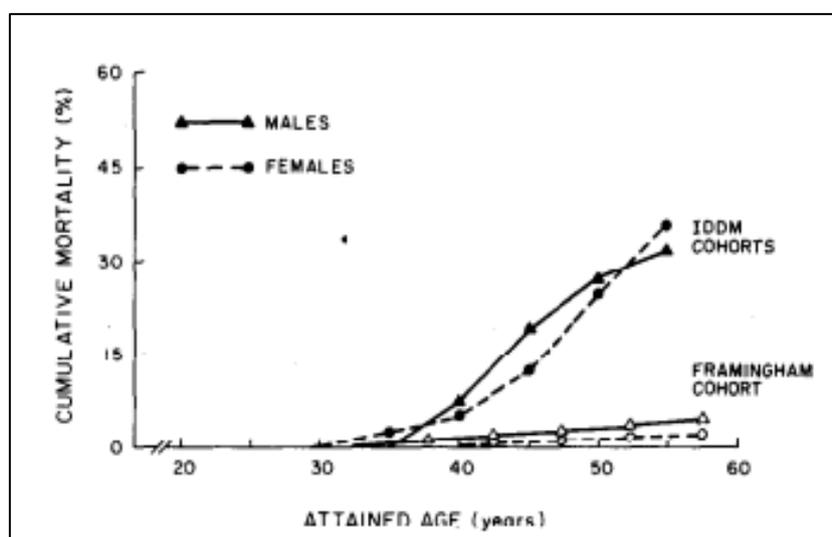
A continuación se exponen los datos más relevantes a cerca de la epidemiología de la enfermedad cardiovascular clínica y subclínica en la DM1, así como sobre su fisiopatología y factores de riesgo.

### 3.1 Epidemiología de la enfermedad cardiovascular en los pacientes con diabetes tipo 1

#### 3.1.1 Prevalencia e incidencia de la aterosclerosis clínica

El primer estudio que revela datos concretos sobre la tasa de mortalidad debida a enfermedad cardiovascular en DM1 data de 1987 (2) y muestra una mortalidad acumulada del  $35 \pm 5\%$  a los 55 años de edad, muy superior a la recogida en el “Framingham Heart study” en personas no diabéticas de la misma edad, 8% para hombres y 4% para mujeres (Figura 1). Este estudio también refleja en la cohorte de DM1 supervivientes de 45-59 años, una tasa de enfermedad coronaria clínica (angina de pecho e infarto agudo de miocardio no mortal) y de enfermedad vascular coronaria asintomática (evaluada mediante prueba de esfuerzo) más elevada que la de la población no diabética, siendo del 33%.

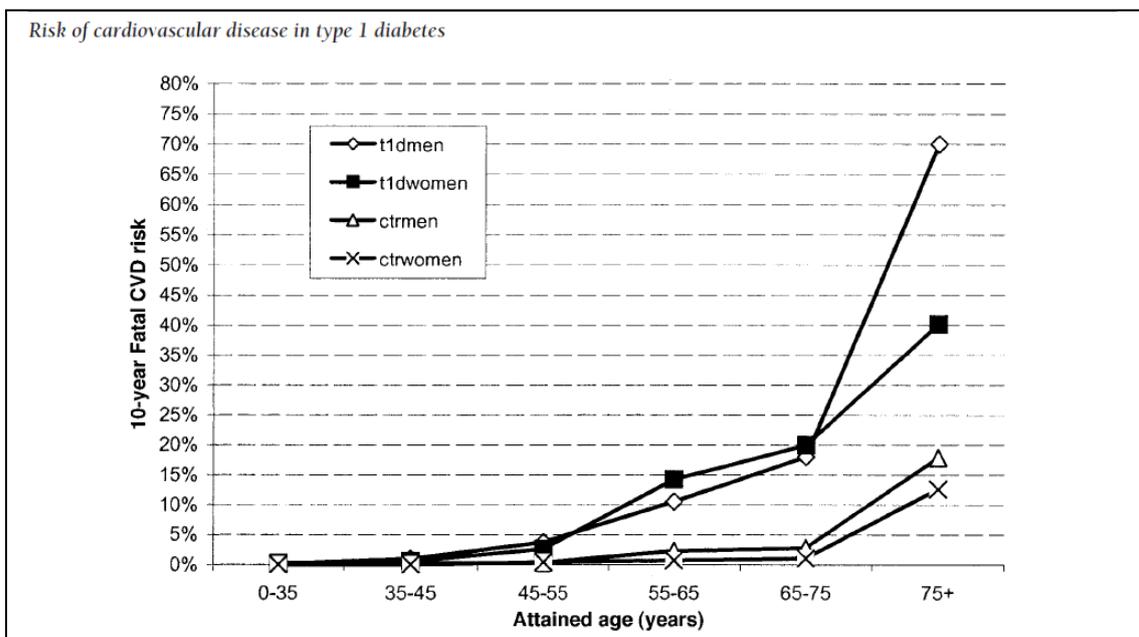
Figura 1: Mortalidad acumulada debida a enfermedad arterial coronaria hasta los 55 años en pacientes con diabetes mellitus insulino dependiente (IDDM COHORTS) y en la población del estudio “Framingham Heart” (FRAMINGHAM COHORT) (2).



Posteriormente se han publicado muchos estudios realizados en cohortes de pacientes con DM1 que muestran una elevada frecuencia de enfermedad cardiovascular en dicha población, en comparación con la registrada en población general. El primero de ellos fue el “Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy” (WESDR) que fue publicado en 1991 y que incluyó una población de 1200 sujetos con diabetes diagnosticada antes de los 30 años y que seguían tratamiento con insulina. En este estudio la razón de mortalidad estandarizada por cardiopatía isquémica fue de 9,1 para hombres y 13,5 para mujeres (9). El “EURODIAB IDDM Complications Study” (10) es un estudio transversal multicéntrico realizado entre 1989 y 1991, que incluía un grupo de 3250 pacientes afectados de DM1 de 16 países europeos, con una media de  $33 \pm 10$  años de edad y  $14,7 \pm 9,3$  años de evolución de la enfermedad. La prevalencia de enfermedad cardiovascular fue del 9% en los hombres y 10% en las mujeres, mostrando relación con la duración de la diabetes y la edad, y observándose un aumento del 6% en el grupo de edad de 15 a 29 años y del 25% en el grupo de edad de 45 a 59 años. En 1998 se publicaron (11) las tasas de enfermedad cardiovascular obtenidas de un corte transversal de dos poblaciones de DM1 de similar edad (28 años de media) y tiempo de evolución (entre 18-20 años); la primera cohorte provenía del registro americano del “Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications study (EDC) ” e incluía 577 pacientes del “Children’s Hospital” de Pittsburg diagnosticados entre 1950 y 1980, y la segunda estaba constituida por un subgrupo de 1215 pacientes del registro europeo del “EURODIAB IDDM”, registrados entre 1988 y 1990 en 31 centros europeos. La prevalencia de enfermedad cardiovascular total fue similar y elevada en ambas cohortes, siendo en las mujeres del 8% frente a 8,7% y en los hombres del 8,5% frente a 7,4% en el “EDC” y “EURODIAB IDDM” respectivamente. En el “UK General Practice Research Database (GPRD)”, uno de los análisis más sólidos sobre el riesgo

cardiovascular en la población con DM1 y que incluye datos de más de 7400 pacientes con una edad media de  $33 \pm 14,5$  años y una duración de la diabetes de  $15 \pm 12$  años, los eventos cardiovasculares ocurrieron un promedio de 10 a 15 años antes que en los controles apareados sin diabetes, siendo las diferencias especialmente marcadas en las mujeres (Figura 2) (12).

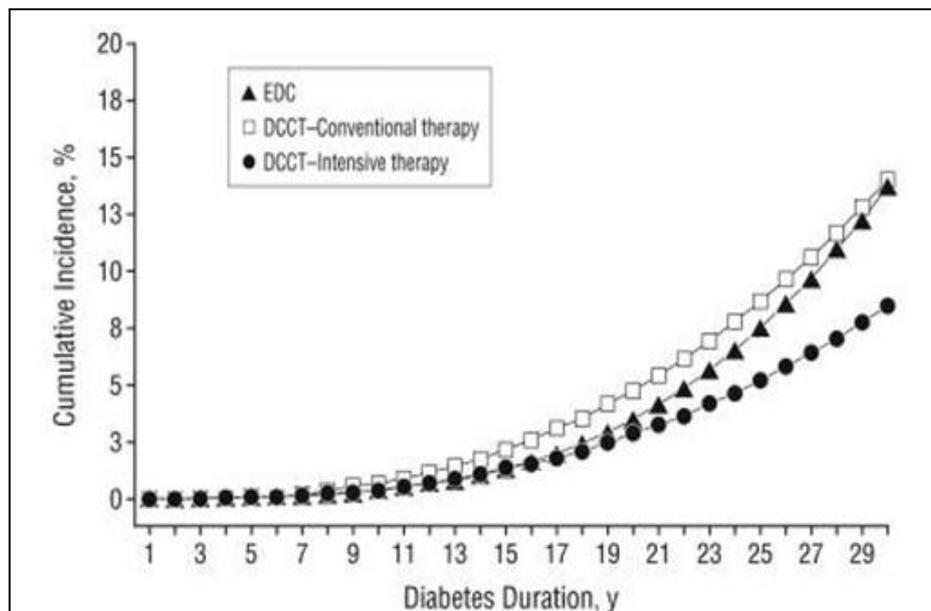
Figura 2: Riesgo estimado de muerte por enfermedad cardiovascular a 10 años por edad en hombres y mujeres con diabetes tipo 1 ( t1dmen/t1dwomen) en comparación con hombres y mujeres control sin diabetes (crtmen/crtwomen) (12).



La DM1 se asoció con un riesgo cuatro veces mayor de enfermedad cardiovascular en los hombres y ocho veces mayor en las mujeres después de la estratificación por año de nacimiento y sexo (13). El estudio “Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC)” que incluyó a 1375 de los 1441 pacientes

iniciales del estudio “Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)” se diseñó para analizar el efecto del control glucémico a más largo plazo. Sus objetivos principales eran, por un lado, examinar los efectos a largo plazo de las diferencias en el control metabólico durante el “DCCT” entre los dos grupos de tratamiento, y por otro lado describir el desarrollo de las complicaciones microvasculares, macrovasculares y neurológicas a lo largo de los años, así como la influencia de otros factores de riesgo. En un análisis conjunto de las cohortes del estudio “DCCT/EDIC”, y un subgrupo de pacientes con DM1 del estudio “EDC” que cumplieran los criterios de inclusión del estudio “DCCT” (n = 161) (14), la incidencia acumulada de eventos cardiovasculares a los 30 años de evolución en la cohorte del grupo de tratamiento intensivo en el “DCCT” fue del 9%, siendo claramente inferior a la del grupo que tratado con terapia convencional en el DCCT (14%), y a la del subgrupo de pacientes del “EDC” (14%) (Figura 3).

Figura 3: Estudio combinado “DCCT/EDIC” y “EDC” a 30 años de evolución de la diabetes. Incidencia acumulada de enfermedad cardiovascular (14).



Por último, recientemente se han publicado datos de un registro escocés donde se identificaron 21.789 pacientes con DM1 mayores de 20 años de edad y con una media de 17,5 años de evolución de su diabetes. Se objetivó un riesgo relativo de presentar una enfermedad coronaria de 2,5 (2,2 - 3) para los hombres y 3,8 (3,1 - 4,7) para las mujeres. La tasa de incidencia del primer evento cardiovascular por 1000 personas por año fue 0,63 en hombres con DM1 y 0,65 en mujeres con DM1, siendo mucho mayor que la tasa de 0,04 hombres y 0,03 en mujeres sin diabetes de todas las edades (15).

En resumen, los episodios de enfermedad cardiovascular son más comunes y ocurren más temprano en los pacientes con DM1, especialmente en las mujeres. Las tasas de prevalencia de enfermedad cardiovascular en pacientes con DM1 varían sustancialmente según la duración de la diabetes, la edad de los pacientes incluidos en las diferentes cohortes, y el control glucémico.

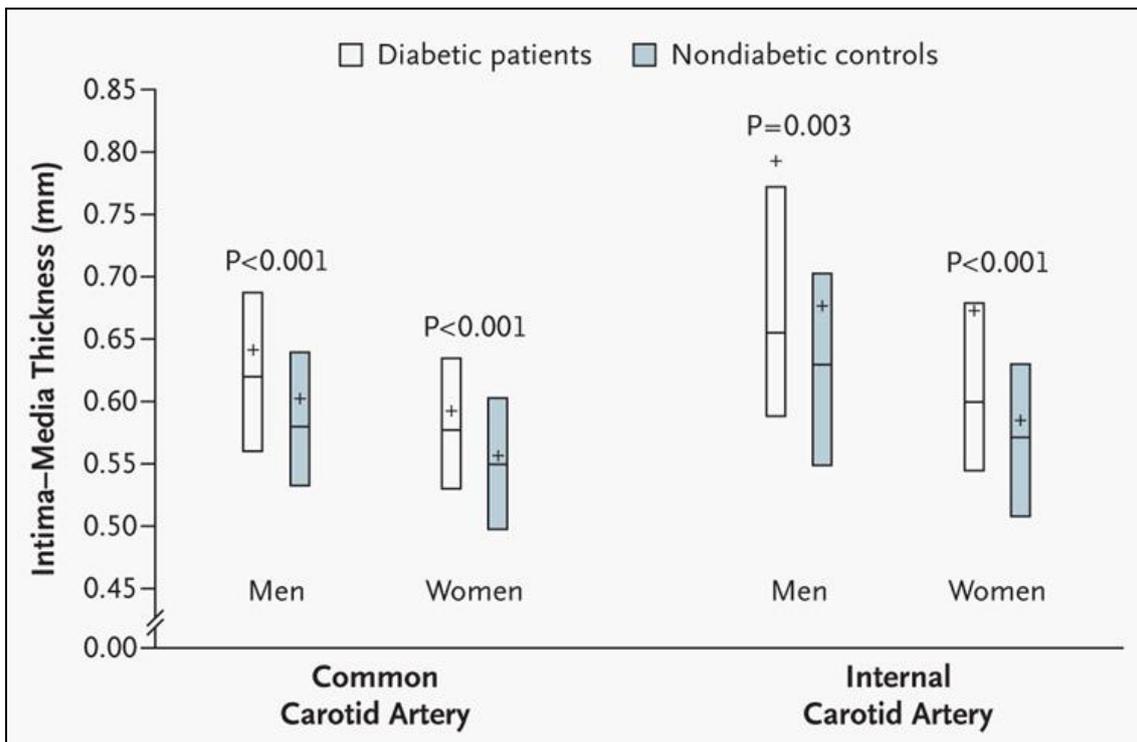
### **3.1.2 Prevalencia e incidencia de la aterosclerosis subclínica**

Las manifestaciones de la aterosclerosis no suelen aparecer hasta la mediana edad, pero los mecanismos se inician en la infancia y se aceleran con la presencia de factores de riesgo (16)(17). El desarrollo del proceso aterosclerótico, responsable finalmente de los eventos cardiovasculares mortales, es más rápido en los niños con DM1. Esta aceleración está relacionada, al menos en parte, con la mayor incidencia de otros factores de riesgo cardiovascular en los sujetos con DM1 comparados con los no diabéticos, incluyendo el aumento de la tensión arterial, el colesterol total y el colesterol LDL, así como los marcadores inflamatorios y de la resistencia a la insulina (18)(19). En este contexto, la evaluación mediante técnicas no invasivas de la aterosclerosis en fases preclínicas puede resultar de especial interés en la población con DM1 para

predecir el desarrollo de futuros eventos cardiovasculares. En la actualidad ya disponemos de información gracias a diferentes técnicas para la evaluación de la aterosclerosis precoz, aplicadas a pacientes con DM1. Los datos sugieren que la aterosclerosis preclínica es más frecuente y más extensa en dichos pacientes, aunque el valor predictivo no está claro. No hay consenso sobre la necesidad y la forma de realizar el despistaje de enfermedad coronaria en los pacientes con DM1 asintomáticos, ni tampoco sobre cuál es la mejor técnica de cribado para detectar aterosclerosis coronaria silente, teniendo en cuenta parámetros de especificidad, sensibilidad y coste. A continuación se resumen algunos de los datos más relevantes.

Grandes estudios prospectivos en individuos asintomáticos no diabéticos de más de 45 años de edad han demostrado de modo concluyente que el grosor de íntima media (GIM) carotídeo es un factor de riesgo independiente de enfermedad cardíaca coronaria (20) (21)(22)(23)(24)(25) y del accidente cerebro-vascular (20)(22)(26)(27). Estudios en niños, adolescentes y adultos jóvenes con DM1 muestran un aumento del GIM carotideo respecto a controles sanos de similar edad y sexo, que se relaciona con el control glucémico y otros factores de riesgo cardiovascular (Figura 4) (28)(29)(30)(31)(32). La ausencia de valores de normalidad en población pediátrica impide determinar la prevalencia de la aterosclerosis subclínica carotídea en estas poblaciones.

Figura 4: Grosor de íntima media en las arterias carótida común e interna al 6º año de seguimiento del estudio “EDIC” en pacientes diabéticos y sujetos control no diabéticos emparejados por edad (28).



El GIM femoral se ha estudiado menos pero también se ha asociado con los factores de riesgo tradicionales y con la existencia de enfermedad coronaria, con un valor predictivo superior al del GIM carotídeo (33)(34). Estudios en DM1 muestran mayor afectación a nivel femoral en esta población en comparación con la población sana (35). En cuanto al GIM poplíteo hay algún estudio en la literatura respecto a su asociación positiva con la enfermedad arterial coronaria (36), pero la información es claramente insuficiente.

La determinación del calcio en las arterias coronarias es un marcador reconocido de aterosclerosis (37) que predice el desarrollo de enfermedad cardiovascular y mortalidad en sujetos no diabéticos (38). La DM1 aumenta la prevalencia y la gravedad de la calcificación coronaria, reduciendo la diferencia entre géneros. La calcificación coronaria se suele relacionar con el tiempo de evolución de la diabetes y otros factores/marcadores de riesgo cardiovascular como el índice de masa corporal (IMC), la circunferencia de cintura, la grasa visceral, los ácidos grasos libres, el tabaquismo, la

resistencia a la insulina, la inactividad física y la hemoglobina glucosilada (HbA<sub>1c</sub>) (32)(39)(40)(41).

La tomografía computarizada multidetectora (TCMD) nos permite la detección de estenosis luminal a nivel de las arterias coronarias y estudios multicéntricos recientes demuestran su utilidad en la predicción de la mortalidad y otros efectos adversos cardiacos (42). La ventaja frente a la determinación de calcio en las arterias coronarias es que refleja la estenosis producida no sólo por placas calcificadas sino también por placas no calcificadas. Varios estudios reflejan mayor grado de aterosclerosis precoz en diabéticos tipo 1 y tipo 2 frente a individuos sanos, destacando los datos del estudio “CONFIRM” (43) que muestran una incidencia de lesiones obstructivas (estenosis > 50%) de 37% en los sujetos con diabetes frente a 27% en los individuos sin diabetes. La prevalencia de algún grado de aterosclerosis (presencia de lesión, obstructiva o no) detectada fue de 72% en sujetos con diabetes frente 64% en los sujetos sin diabetes.

Se han publicado también estudios que utilizan diferentes métodos para la evaluación de la función endotelial como el estudio de la dilatación mediada por flujo mediante tonometría arterial periférica, o el estudio de la dilatación mediada por nitrato que se altera incluso en fases muy tempranas de la DM1 (14)(44)(45). Otra técnica menos utilizada para la evaluación de aterosclerosis preclínica sería la medición del flujo sanguíneo mediante pletismografía venosa de extremidades. Se ha demostrado que el flujo sanguíneo está disminuido en pacientes jóvenes con DM1 y DM2 (46) y un flujo sanguíneo reducido en extremidades puede indicar disfunción endotelial y/o rigidez arterial. Diferentes índices de rigidez arterial también se han asociado con factores de riesgo cardiovascular en varias poblaciones incluida la población de DM1 (47). Por último también se han descrito alteraciones de la función cardiaca en DM1 jóvenes (48).

### **3.2 Fisiopatología: factores de riesgo de la enfermedad cardiovascular en la diabetes tipo 1**

La base fisiopatológica de las complicaciones cardiovasculares en la población con DM1 aún es incierta, y el papel relativo de los diferentes factores de riesgo cardiovascular tradicionales en la DM1 no está bien definido. A diferencia de los pacientes con DM2, los pacientes con DM1 representan un grupo que se caracteriza principalmente por la hiperglucemia a largo plazo sin otras alteraciones metabólicas cuantitativas asociadas. Los factores de riesgo cardiovascular tradicionales como la hiperlipidemia, la hipertensión y el tabaquismo también están implicados en el riesgo cardiovascular de los pacientes con DM1 (49)(50), sin embargo, a diferencia de lo que ocurre en la DM2, estos factores raramente están presentes cuando se diagnostica la DM1, y si se desarrollan, típicamente lo hacen después de varios años de historia de la diabetes. Además, en el “Pittsburgh EDC study” la ecuación de Framingham infraestima la predicción de eventos cardiovasculares en los pacientes con DM1 (51), lo que refuerza que los factores de riesgo cardiovascular clásicos, aunque contribuyen, no explican el mayor riesgo cardiovascular de los pacientes con DM1 y sugiere la existencia de factores específicos para este tipo de diabetes. A continuación revisamos los factores de riesgo considerados más específicos en la fisiopatología de la enfermedad cardiovascular en la DM1 o que resultan relevantes en la evaluación y manejo del riesgo en estos pacientes.

#### **3.2.1 Hiperglucemia**

En la actualidad disponemos de estudios fisiopatológicos, epidemiológicos y de intervención que apoyan la exposición prolongada a la hiperglucemia como el principal factor etiopatogénico de la aterosclerosis en la DM1. La hiperglucemia favorece el

desarrollo de complicaciones microvasculares tales como la nefropatía y la afectación del sistema nervioso autónomo (52)(53)(54)(55)(56), que constituyen un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. La hiperglucemia además, activa múltiples procesos que están interrelacionados como la inducción del estrés oxidativo, la activación de la protein kinasa C y la glicosilación no enzimática, que favorecen el desarrollo de la aterosclerosis (57)(58). Como hemos indicado previamente, la glucemia se asocia con la aterosclerosis preclínica (31)(32) y la extensión de la aterosclerosis, determinada mediante ecografía intravascular, también se correlaciona con la HbA<sub>1c</sub> durante el seguimiento de más de 18 años en el Estudio de Oslo, observándose un aumento del 6,4% en la estenosis coronaria por el aumento del 1% en la HbA<sub>1c</sub> media (59). Sin embargo, la evidencia epidemiológica sobre la relación entre la hiperglucemia y los eventos clínicos de cardiopatía coronaria en la DM1 no es homogénea (54)(60)(61)(62)(63). En los estudios “EURODIAB”, “Pittsburgh EDC” y “WESDR” no hubo asociación entre el control glucémico y la enfermedad cardiovascular, pero en los dos últimos existía relación con la mortalidad cardiovascular. El reciente registro sueco (61) mostró asociación entre la HbA<sub>1c</sub> y enfermedad coronaria en la DM1 siendo la Hazard Ratio (razón de tasas instantáneas) 1,3 por 1% de aumento de la HbA<sub>1c</sub>; tanto la mortalidad total como la mortalidad cardiovascular, fueron entre 2 y 9, y entre 3 y 10 veces más elevadas respectivamente que en la población general dependiendo de los niveles de HbA<sub>1c</sub> (64). Los datos del estudio “DCCT/EDIC” permitieron establecer de forma definitiva los beneficios de la mejoría del control glucémico sobre los eventos cardiovasculares en la DM1. En el estudio “DCCT”, la tasa de eventos cardiovasculares no se modificó significativamente en el grupo de tratamiento intensivo. Después de concluir ese estudio, se siguió en el estudio “EDIC” al 93% de la cohorte durante 11 años adicionales, durante los cuales las

diferencias en la HbA<sub>1c</sub> desaparecieron. Durante el seguimiento combinado de 17 años, el riesgo de cualquier episodio cardiovascular se redujo en el grupo intensivo en un 42% (9% - 63%;  $p < 0,01$ ) y el objetivo combinado de infarto de miocardio no fatal, ictus o muerte cardiovascular en un 57% (12% - 79%;  $p = 0,02$ ) (65). Este efecto se explica principalmente por la diferencia en la HbA<sub>1c</sub> durante el “DCCT” y apoya la memoria metabólica como el proceso implicado en los beneficios del control óptimo de la glucosa sobre los eventos cardiovasculares a largo plazo. Los mecanismos potenciales de la memoria metabólica incluyen una mayor formación de especies reactivas celulares y productos avanzados de glicación en respuesta a la hiperglucemia crónica, resultando en la activación de los mecanismos implicados en la patogénesis de las complicaciones relacionadas con la diabetes (66)(67)(68). Finalmente, la optimización del control glucémico reduce otros factores asociados con mayor riesgo cardiovascular como las diferentes manifestaciones de la enfermedad renal (microalbuminuria, macroalbuminuria y deterioro del filtrado glomerular) (69)(70) y alteraciones lipídicas cuantitativas y cualitativas (71)(72)(73).

### **3.2.2 Hipoglucemia**

En condiciones experimentales, la hipoglucemia aguda tiene un número de efectos cardiovasculares adversos, entre los que se incluyen la inflamación subclínica, disfunción endotelial, trombosis, isquemia, disfunción autonómica y efectos proarrítmicos que pueden promover aterotrombosis, isquemia cardíaca y una repolarización cardíaca anormal (74)(75)(76). A pesar de que la relevancia clínica de estos mecanismos en la precipitación de los acontecimientos cardiovasculares aún debe ser establecida, y que clínicamente la hipoglucemia aguda rara vez se ha asociado con eventos cardiovasculares, un estudio reciente en sujetos con DM1 sugiere que la

exposición recurrente a la hipoglucemia puede promover el desarrollo prematuro de enfermedad cardiovascular (77). Además, en pacientes con DM2 las hipoglucemias sintomáticas y asintomáticas se asocian con arritmias cardíacas (78) y con un aumento de la mortalidad (79). Por lo tanto, en espera de datos más clarificadores, parece razonable establecer objetivos glucémicos individualizados y ajustados para evitar arritmias inducidas por hipoglucemia potencialmente fatales, especialmente en los sujetos con enfermedad cardiovascular y/o elevado riesgo cardiovascular.

### **3.2.3 Síndrome metabólico: resistencia a la insulina, dislipemia, hipertensión e inflamación**

Tradicionalmente las personas afectadas de DM1 presentaban un peso normal o bajo y una tendencia tardía a la hipertensión arterial y a la dislipemia. No obstante, se ha visto que los pacientes con DM1 y normopeso tienen mayor resistencia a la insulina que los sujetos control emparejados por estadio puberal, sexo, actividad física e IMC (18). Además, la obesidad y el síndrome metabólico es cada vez más frecuente en la población con DM1 (80)(81)(82), lo que probablemente está relacionado con los cambios en el estilo de vida comunes a la población general, pero también con el control intensivo de la glucemia. Tal como se objetivó en el estudio “DCCT”, el control intensivo de la glucemia se asocia con aumento de peso y secundariamente con un empeoramiento del perfil lipídico, la presión arterial, la obesidad central, la resistencia a la insulina y el estado inflamatorio (83). Estos datos son importantes ya que la presencia de síndrome metabólico se asocia con un riesgo adicional 2,5 veces mayor de desarrollar enfermedades cardiovasculares y mortalidad relacionada con la diabetes, ajustado por los factores de riesgo tradicionales y la nefropatía diabética (84). Además, el desarrollo de síndrome metabólico probablemente limita los beneficios del control

intensivo de la glucosa en la reducción del riesgo cardiovascular en la población con DM1. Por otro lado en la actualidad se dispone de información creciente sobre la relación entre síndrome metabólico y una mayor cantidad de tejido adiposo epicárdico (una forma particular de grasa visceral metabólicamente activa que se ubica sobre el miocardio y alrededor de las arterias coronarias de forma ectópica). Hay estudios que revelan que los sujetos con DM2 presentan mayor volumen de tejido adiposo epicárdico frente a controles (85) y que se asocia a parámetros de síndrome metabólico y mayor severidad de aterosclerosis. El tejido adiposo epicárdico se ha correlacionado clínicamente con la masa del ventrículo izquierdo, con las dimensiones auriculares y la función diastólica (86), y también con la estenosis de las arterias coronarias (87)(88). Sin embargo, la información disponible sobre el tejido adiposo epicárdico en pacientes con DM1 es muy escasa (89)(90)(91) y existen limitaciones relacionadas con la población estudiada y la metodología empleada que dificultan la interpretación de los resultados.

En cuanto al perfil lipídico, en general, los pacientes con DM1 mal controlados suelen presentar niveles elevados de colesterol LDL y bajos de colesterol HDL, mientras que las concentraciones de los parámetros lipídicos de los pacientes bien controlados son similares a los de los individuos sin diabetes (71)(92). Los pacientes con DM1 sin complicaciones crónicas presentan niveles de colesterol HDL similares a la población general, sin embargo, se ha demostrado que pueden ser en cierto grado disfuncionantes, por lo que el efecto antioxidante sería menor (93). El efecto de la diabetes es más desfavorable en las mujeres que en los hombres con diabetes y la optimización del control glucémico normaliza o mejora las concentraciones lipídicas en ambos sexos. En un estudio realizado en pacientes con DM1 (71) se objetivó que la alteración más prevalente era el colesterol HDL bajo y la proporción de pacientes con

concentraciones de colesterol LDL > 100 mg/dl y > 130 mg/dl se reducía de 78% y 42% (en situación de mal control) a 66% y 26% después de la optimización del control, lo que indica que una proporción importante de pacientes requieren intervención hipolipemiente adicional. Los pacientes con DM1 también presentan alteraciones cualitativas de las lipoproteínas, incluso con buen control de la glucemia, asociadas con mayor potencial aterogénico o antiaterogénico, pero cuya repercusión en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular en la DM1 aún es desconocida (72)(94). El impacto de las bajas concentraciones de HDL es aún controvertido. Los mecanismos que causan esta disminución son desconocidos, aunque se hipotetiza que el enriquecimiento de triglicéridos de las HDL aumenta la acción de la lipasa hepática y da lugar a partículas más pequeñas que son eliminadas de la circulación más rápidamente (95). Además, estudios in vitro sugieren que esta disminución se acompaña de defectos en su función antiaterogénica, con una reducción en la capacidad para promover el eflujo de colesterol desde macrófagos y una actividad antioxidante y antiinflamatoria defectuosa (95). Entre las causas se barajan las modificaciones conformacionales de las partículas, la glicación de la apolipoproteína A-I (apoA-I) y/o el enriquecimiento de las HDL en proteína sérica amiloide A como resultado de un proceso inflamatorio crónico. Por otro lado, algunos fármacos que elevan moderadamente las concentraciones de HDL (fibratos o ácido nicotínico) se han asociado con una reducción en el riesgo cardiovascular (96). Sin embargo, el uso del torcetrapib (inhibidor de la proteína transportadora de los esteres de colesterol que eleva las concentraciones de colesterol HDL un 60%) ha fracasado a la hora de disminuir la incidencia de eventos cardiovasculares (97). Estos resultados no se comprenden completamente, pero posiblemente tengan relación con la alteración funcional de las HDL debida a la manipulación del metabolismo lipídico.

La hipertensión es más común en los pacientes con DM1. En el estudio de “CACTI”, la hipertensión fue mucho más común en los pacientes con DM1 que en los sujetos control emparejados por sexo y edad (43% frente a 15%;  $p < 0,001$ ) (98) y en el estudio “EURODIAB IDDM Complications” casi una cuarta parte de los pacientes tenían una presión arterial  $\geq 140 / 90$  mmHg o hipertensión tratada (99). Además de la nefropatía y la obesidad, la hiperglucemia también puede contribuir al desarrollo de hipertensión a largo plazo, tal como muestra el estudio “DCCT/EDIC” en el que los niveles más altos de HbA<sub>1c</sub> se asociaron con mayor riesgo de hipertensión y la terapia intensiva redujo el riesgo de hipertensión en un 24% (100).

La consideración de la aterosclerosis como un proceso inflamatorio (101), ha dado lugar a la investigación de la relación de diferentes marcadores séricos inflamatorios (proteína C reactiva (PCR), interleucinas (IL), adiponectina, y PAF AH (platelet activating factor acetyl-hydrolase), con el desarrollo de enfermedad cardiovascular (102). El aumento de citoquinas inflamatorias contribuye a la inestabilidad de la placa en pacientes con diabetes. Se asume que el aumento de citoquinas inflamatorias provoca daño endotelial y anormalidades en la coagulación dando lugar a un aumento de riesgo de eventos cardiovasculares (aterosclerosis). En pacientes con DM1 se ha descrito un aumento de marcadores inflamatorios como PCR, IL6, y factor de necrosis tumoral alfa (19), pero la información en esta población es escasa y se desconoce si el aumento de estos marcadores son causa o consecuencia de la enfermedad dado que son estudios trasversales.

### **3.2.4 Enfermedad renal**

La enfermedad renal, presente como microalbuminuria, macroalbuminuria, o deterioro del filtrado glomerular, es una complicación de la DM1 que está fuertemente

ligada a las enfermedades cardiovasculares. Con la aparición de la nefropatía diabética, existe un aumento dramático del riesgo de desarrollar enfermedad coronaria. Así, después de 20 años de enfermedad, hasta el 29% de los pacientes con diabetes de inicio infantil y nefropatía tendrá enfermedad coronaria en comparación con sólo 2 - 3% en pacientes similares sin nefropatía (103). En una revisión reciente los pacientes con DM1 y microalbuminuria presentaron un riesgo relativo de enfermedad coronaria de 2,1 (IC 95%, 1,2 - 3,5), y de mortalidad por enfermedad cardiovascular global de 2,0 (IC 95%, 1,5 a 2,6) (104); por otro lado también observamos que el riesgo de todas las causas de muerte aumenta con la severidad de la enfermedad renal (105)(106). El solapamiento existente entre los factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad renal y cardiovascular, tales como la hiperglucemia, la hipertensión, la dislipemia, la obesidad y la resistencia a la insulina, es uno de los mecanismos propuestos para explicar el aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular asociado a la enfermedad renal en los pacientes con DM1. En este escenario, la afectación renal constituiría simplemente un marcador de la gravedad y la duración de los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular. Existen otros potenciales factores, pero probablemente el más relevante es la contribución de la enfermedad renal al empeoramiento de los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular tradicionales como la hipertensión arterial, la dislipidemia y la resistencia a la insulina.

De todo esto concluimos que la información disponible sobre los factores implicados en el desarrollo de la arteriosclerosis precoz en la DM1 es claramente insuficiente. Ello se justifica en parte, por la edad de diagnóstico de la DM1 y la necesidad de realizar un seguimiento muy prolongado hasta el desarrollo de eventos cardiovasculares ateroscleróticos.

## **4 HIPÓTESIS**

La enfermedad cardiovascular es más frecuente y precoz en los pacientes con DM1, y el riesgo de muerte cardiovascular en esta población es 10 veces superior a la de los sujetos sin diabetes de la misma edad. La información disponible sobre los factores implicados en el desarrollo de la arteriosclerosis precoz en la DM1 es claramente insuficiente. Ello se justifica en parte, por la edad de diagnóstico de la DM1 y la necesidad de realizar un seguimiento muy prolongado hasta el desarrollo de eventos cardiovasculares ateroscleróticos.

Nuestra hipótesis es que el estudio de una cohorte de pacientes con DM1, de la cual se dispone de un registro del control glucémico y de otros factores de riesgo cardiovascular desde el debut de la enfermedad, junto a la posibilidad de detectar de forma mucho más precoz la presencia de lesiones ateroscleróticas con técnicas no invasivas de elevada sensibilidad y especificidad, deberían permitir obtener datos relevantes para identificar los factores implicados en el desarrollo precoz de la aterosclerosis en los pacientes con DM1. El conocimiento de la prevalencia de la aterosclerosis clínica y subclínica y su relación con los factores fisiopatológicos contribuiría a establecer las medidas preventivas y terapéuticas más eficaces.

## 5 OBJETIVOS

### **Objetivo general:**

Estudiar la relación del grado de control glucémico y perfil de los factores de riesgo cardiovascular, valorados desde el inicio de la diabetes, con la presencia de aterosclerosis clínica o subclínica en la DM1 de larga evolución, y evaluar potenciales nuevos marcadores/mecanismos implicados en la patogénesis de la aterosclerosis en la DM1.

### **Objetivos específicos:**

1. Determinar la prevalencia y magnitud de la aterosclerosis clínica y subclínica coronaria, carotídea y poplíteo-femoral en una población de pacientes con DM1 de larga evolución.
2. Determinar el grado de control glucémico desde el inicio de la diabetes y su relación con la presencia de aterosclerosis clínica o subclínica en la DM1.
3. Estudiar el perfil de los factores de riesgo cardiovascular desde el inicio de la diabetes y la relación del mismo con la presencia de aterosclerosis clínica o subclínica en la DM1. Determinar nuevos marcadores de riesgo cardiovascular relacionados con la inflamación y modificaciones de las lipoproteínas y su relación con la presencia de aterosclerosis clínica o subclínica en la DM1.
4. Evaluar el volumen de tejido adiposo epicárdico y determinar su relación con las características clínicas y la presencia de aterosclerosis clínica o subclínica en la DM1.
5. Estudiar las propiedades biológicas y físico-químicas que modulan la capacidad antiaterogénica de las HDL (transporte reverso de colesterol y prevención de oxidación de LDL) y su relación con el control glucémico y con la presencia de

complicaciones microangiopáticas y de aterosclerosis clínica o subclínica en la DM1.

6. Determinar la relación entre la presencia de complicaciones microangiopáticas de la diabetes con la presencia aterosclerosis clínica o subclínica.

## **6 MATERIAL Y MÉTODOS**

### **6.1 Población de estudio**

En nuestro centro la terapia intensiva con múltiples dosis de insulina se estableció como el tratamiento de elección para todos los pacientes con DM1 de nuevo diagnóstico a partir de 1985. Todos los pacientes que se diagnosticaron entre 1985 y 1994 (n = 200) fueron seguidos durante el primer año en una clínica específica y posteriormente en la consulta general de diabetes. Anualmente se registraron datos clínicos y analíticos relacionados con el tratamiento y control de la enfermedad y de los factores de riesgo cardiovascular.

En el presente estudio, se ofreció participar a los pacientes que fueron diagnosticados de DM1 entre los años 1985 y 1994 y que fueron seguidos de forma regular desde el diagnóstico en el Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (n = 130 pacientes). El reclutamiento se realizó mediante una llamada telefónica, previo contacto por su endocrinólogo de referencia en el hospital. El periodo de reclutamiento fue del 1.4.2012 al 1.4.2013.

El estudio fue aprobado por el comité de ética y todos los participantes firmaron el consentimiento informado.

### **6.2 Recogida de datos y métodos**

#### **6.2.1 Revisión de la historia clínica y visita del estudio**

Mediante la revisión de la historia clínica, se fueron recogiendo desde el diagnóstico de la diabetes los datos anuales de control glucémico (HbA<sub>1c</sub>), perfil lipídico (colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, colesterol VLDL y

triglicéridos), IMC, presencia de factores de riesgo cardiovascular clásicos (hipertensión, tabaquismo, dislipemia), y diagnóstico de complicaciones crónicas de la diabetes (retinopatía, nefropatía, polineuropatía y macroangiopatía).

Los pacientes que aceptaron participar fueron citados para una visita de estudio con el equipo investigador médico especialista en endocrinología en la que se ofreció información detallada sobre el objetivo y las pruebas que se llevarían a cabo, y se solicitó la firma del consentimiento informado.

En la visita del estudio se completó la información que no constaba o era dudosa en el registro y la historia clínica. Se determinaron los datos antropométricos (peso, talla y perímetro de cintura) y la tensión arterial, y se realizó la exploración vascular y neurológica. Finalmente, se tomaron muestras de sangre, tras al menos 8 horas de ayuno, y de orina para las determinaciones analíticas.

### **6.2.2 Diagnóstico de complicaciones tardías**

Se consideró la presencia de retinopatía diabética si había informes oftalmológicos que lo confirmasen, o bien antecedente de fotocoagulación con láser o de vitrectomía. Se estableció el diagnóstico de nefropatía diabética cuando existía constancia de albuminuria en al menos 2 analíticas realizadas con una separación de 3 - 6 meses (nefropatía incipiente si albuminuria entre 30 - 300 mg/24h, establecida si albuminuria > 300 mg/24h y avanzada si además existía deterioro de la función renal). Se catalogó como polineuropatía diabética la presencia de disminución de la sensibilidad vibratoria explorada con diapason de 128 Hz, y/o de la sensibilidad a la presión explorada con monofilamento de 5,07 de Semmes-Weinstein con o sin clínica. Se valoró como cardiopatía isquémica el antecedente de infarto agudo de miocardio, cirugía de revascularización coronaria o bien la presencia de un electrocardiograma de

reposo sugestivo de isquemia. Se consideró enfermedad vascular cerebral la historia previa de accidente isquémico transitorio o accidente vascular cerebral. Se estableció el diagnóstico de enfermedad vascular periférica ante la existencia de claudicación intermitente, dolor en reposo o úlcera y estudio eco-doppler positivo, o antecedente de amputación o cirugía de revascularización.

### **6.2.3 Diagnóstico de factores de riesgo cardiovascular**

Se definió hipertensión arterial como la presencia de 3 o más cifras de presión arterial sistólica  $\geq 140$  mmHg y/o diastólica  $\geq 90$  mmHg o la toma de tratamiento antihipertensivo. La dislipemia se definió como la presencia de unos niveles de colesterol LDL  $\geq 4,2$  mmol/l, y/o triglicéridos  $\geq 2,3$  mmol/l o la toma de tratamiento hipolipemiente. Se consideró al paciente sedentario si no realizaba ejercicio aeróbico  $\geq 2$  días por semana o bien caminaba  $< 60$  minutos/día, y fumador si consumía tabaco diariamente. Se consideró siguiendo los criterios de la “Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad” (107) que un paciente presentaba sobrepeso si presentaba un IMC entre 25 y 29,9 kg/m<sup>2</sup> y obesidad si presentaba un IMC  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>. Se estableció el diagnóstico de síndrome metabólico si cumplía los criterios propuestos por la “Internacional Diabetes Federation (IDF)”, es decir, presencia de obesidad central (perímetro abdominal  $\geq 94$  cm ♂ y  $\geq 80$  cm ♀) junto 2 más de los siguientes criterios:

- Triglicéridos  $\geq 150$  mg/dl o tratamiento específico para los mismos.
- Colesterol HDL  $< 40$  mg/dl en varones y  $< 50$  mg/dl en mujeres.
- Presión arterial sistólica  $\geq 130$  mmHg y/o diastólica  $\geq 85$  mmHg o toma de tratamiento antihipertensivo.
- Glucemia venosa basal  $\geq 100$  mg/dl o diabetes previamente diagnosticada.

Se eligió la nueva definición de la IDF pues representa una herramienta diagnóstica asequible y fácil de aplicar (108) y tiene en cuenta las diferencias étnicas en cuanto al perímetro de cintura.

Para determinar qué pacientes se encontraban en objetivos de control glucémico y lipídico se tuvieron en cuenta las recomendaciones de la “ American Diabetes Association (ADA)” (109).

### **6.3 Determinaciones analíticas**

#### **6.3.1 Determinaciones bioquímicas estandarizadas**

- Hematología y bioquímica estándar.
- Marcadores del metabolismo hidrogenado: glucemia (hexoquinasa) y HbA<sub>1c</sub>. La HbA<sub>1c</sub> se determinó por HPLC, expresando los valores obtenidos en los primeros años, realizados con un método diferente, como desviaciones estándar alrededor de la media en torno al método utilizado y transformándolos en % para compararlos con el método actual.
- Perfil lipídico (colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, colesterol VLDL, triglicéridos, apolipoproteína A-I (apoA-I), apolipoproteína B (apoB), lipoproteína (a) y ácidos grasos no esterificados (NEFAS). Los triglicéridos se determinaron por métodos enzimáticos estandarizados, el colesterol HDL por un método directo utilizando enzimas modificadas con polietilenglicol, el colesterol LDL se calculó con la fórmula de Friedewald (cuando triglicéridos <3,36 mmol/L) o se midió por ultra centrifugación según el método recomendado por el Lipids Research Clinics (cuando triglicéridos >3,36 mmol/L), y el colesterol VLDL se calculó por la resta de las otras fracciones del colesterol respecto al colesterol total.

- Microalbuminuria (orina con verde de bromocresol) y proteinuria (cloruro de bencetonio) en orina de 24 h.

### 6.3.2 Determinaciones bioquímicas específicas

- Marcadores de inflamación: adiponectina, leptina, TGF- $\beta$ , IL-6, IL-10 y PCR. La PCR se midió por un método comercial de alta sensibilidad (hsCRP, Roche Diagnostics) en un autoanalizador Hitachi 917. La IL-6, la IL-10, la leptina y la adiponectina se cuantificaron mediante ELISA de Bender Medsystems (IL-6, IL-10 y TGF $\beta$ ) o de R&D (leptina y adiponectina).
- Determinación de las propiedades biológicas y físico-químicas que modulan la capacidad antiaterogénica de las lipoproteínas de alta densidad (HDL): las alícuotas de suero y/o plasma-EDTA fueron congeladas a -80°C hasta su utilización. Todos los parámetros se realizaron a partir de plasma-EDTA, excepto la actividad paraoxonasa, que se realizó a partir de suero (este enzima necesita calcio para su actividad), y la cuantificación de las fracciones HDL2 y HDL3 (aunque esta determinación puede realizarse también a partir de plasma-EDTA).
  - Determinaciones realizadas a partir de suero:
    - Determinación del tamaño y cuantificación de las fracciones de HDL2 y HDL3: se realizó a partir de 20  $\mu$ l de suero mediante electroforesis no desnaturizante en gradiente poliacrilamida, utilizando un gradiente de 2-16% de acuerdo a métodos descritos (110).
    - Actividades enzimáticas: la actividad paraoxonasa 1 (PON1) se cuantificó a partir de 10  $\mu$ l de suero total (la presencia de EDTA inactiva

el enzima), utilizando fenilacetato como sustrato (111). La actividad fosfolipasa A2 asociada a lipoproteínas (Lp-PLA2, también denominada PAF-AH) se determinó con 20 µl de plasma-EDTA, utilizando 2-tio-PAF como sustrato (Cayman Chemicals)(112).

- Determinaciones realizadas a partir de HDL aislada:
  - Aislamiento de HDL: se realizó mediante ultra centrifugación secuencial en el rango de densidad 1.063-1.210 g/ml a partir 2 ml de plasma-EDTA. Todo el proceso se realizó a 4°C utilizando soluciones de densidad que contenían EDTA y BHT para prevenir las modificaciones oxidativas y la degradación proteica (113).
  - Composición en lípidos y proteínas: la composición de lípidos y proteínas de la HDL aislada incluyó la determinación de colesterol esterificado (= masa colesterol éster HDL), colesterol libre (= masa colesterol libre HDL), fosfolípidos (= masa phos HDL), triglicéridos (= masa triglicéridos HDL), apoA-I (= masa apo AI-HDL), apoA-II (= masa apo AII-HDL), apoE (= masa apo E-HDL) y apoCIII (= masa apo CIII-HDL). Todos estos parámetros se cuantificaron mediante métodos enzimocolorimétricos o inmunturbidimétricos (Roche Diagnostics, Wako Chemicals o Kamiya) adaptados a un autoanalizador Hitachi 917 (114).
  - Actividades enzimáticas: la actividad Lp-PLA2 asociada a HDL (= Lp PLA2-HDL) se determinó mediante el método indicado anteriormente, tras precipitación de la fracción de VLDL+LDL con dextran sulfato (115). La actividad PON1 se valoró utilizando suero total, ya que este enzima está siempre asociado a la HDL.

- Capacidad antioxidante de la HDL: se valoró la capacidad de inhibición de la HDL de los pacientes sobre la cinética de oxidación inducida por sulfato de cobre de una LDL control (115). Se expresó como el incremento del tiempo de la fase de latencia de la cinética de LDL+HDL en comparación con la fase de latencia de la LDL control sola (= % incr lag phase)
- Eflujo de colesterol (= eflujo colesterol HDL): La capacidad de promover el eflujo de colesterol de la HDL se determinó en cultivos celulares de macrófagos (línea P388D1). La acumulación de colesterol en los macrófagos fue inducida tras incubación de 24 h con LDL acetilada marcada con éster de colesterol tritiado. La capacidad de eflujo se valoró tras 4 h de incubación de los macrófagos con HDL de los pacientes y aislamiento de la fracción HDL por ultra centrifugación (116).

## **6.4 Estudio radiológico**

### **6.4.1 Estudio con tomografía computarizada multidetectora de las arterias coronarias**

Se utilizó un TCMD de 256 cortes (Philips iCT 256, Philips Healthcare, Amsterdam, Países Bajos) que permite obtener 256 cortes simultáneos. Este TCMD posibilita la obtención de estudios sincronizados con el electrocardiograma y mediante adquisición prospectiva, así como la utilización de bajo voltaje (100 Kv) con el fin de obtener estudios con baja irradiación de los pacientes. Actualmente, con estos equipos y las consideraciones anteriormente citadas es posible la realización de una coronariografía no invasiva con irradiaciones por debajo de 3 mSv (irradiación media de

un cateterismo invasivo con finalidad diagnóstica entorno los 7-10 mSv). En todos los casos y siempre que no hubiese contraindicación, se administró contraste endovenoso yodado a concentración de 320 mg/ml (Mallinckrodt pharmaceuticals, Dublín, Ireland), por vía periférica (un volumen de 60-90 ml, dependiendo del peso del paciente). Los TCMD fueron realizados por técnicos especializados e informados por dos cardiólogos colaboradores. Las imágenes del TCMD se utilizaron para determinar la presencia, extensión y severidad de la enfermedad arterial coronaria epicárdica así como para la medición del volumen de tejido adiposo epicárdico. Se definió como aterosclerosis coronaria significativa la presencia de enfermedad arterial coronaria aterosclerótica que provocase una obstrucción de la luz de más del 50% (respecto al diámetro luminal de referencia). La medición del volumen de tejido adiposo epicárdico se realizó mediante el trazado de regiones de interés en los distintos planos axiales obtenidos. Los voxels (unidad cúbica de tejido adiposo) con densidades comprendidas entre -150 a -30 unidades Hounsfield fueron considerados como tejido adiposo epicárdico. El volumen de tejido adiposo (cc) se obtuvo sumando las áreas trazadas mediante el software OsiriX MD (v 6.5, FDA cleared, Pixmeo). Posteriormente el resultado se ajustó por superficie corporal obteniendo el índice de tejido adiposo epicárdico (iEAT) en cc/m<sup>2</sup> superficie corporal.

#### **6.4.2 Estudio con ecografía doppler de troncos supra aórticos y femorales**

Se utilizó el ecógrafo doppler Siemens Antares con una sonda lineal multifrecuencia de 5 a 10MHz tanto para la medición de los troncos supra-aórticos como para las extremidades inferiores (ya que adapta la frecuencia en función del estudio deseado). Se realizó el análisis posterior de las imágenes, con el software syngo US workplace®. El GIM fue definido como la distancia existente entre el interfaz luz-

íntima y media adventicia. Para la medición en troncos supra-aórticos se colocó al paciente en decúbito supino con inclinación contra lateral de la cabeza de 45° para la visualización longitudinal de la bifurcación carotídea y valoración del GIM en pared distal a la sonda ecográfica. Se examinó un segmento predeterminado de la carótida común de ambos lados (1cm proximal al bulbo carotídeo), recogiendo a cada lado el GIM máximo y GIM medio. Cada uno de ellos fue extraído de la media de tres mediciones. Finalmente se realizó la media del lado derecho e izquierdo para dar el resultado final de cada una de las mediciones.

Para la medición en arterias femorales comunes se dispuso al paciente en decúbito supino. Se visualizó la bifurcación femoral a nivel inguinal y se realizó la medición 1cm proximal a la bifurcación. También se midió el GIM máximo y GIM medio, los datos resultantes fueron la media de tres mediciones consecutivas. Ya en decúbito prono y con igual protocolo que en femorales se realizó la medición de GIM en arteria poplítea a nivel del hueco poplíteo. Las exploraciones fueron realizadas por dos investigadores entrenados en la realización de ecografías carotídeas, y de extremidades y siguiendo siempre el mismo protocolo estandarizado previamente descrito.

Los criterios utilizados para graduar la estenosis carotídea fueron los indicados por las Guías de la Sociedad Española de Angiología y Cirugía Vascul ar (117). El tiempo de la exploración fue de alrededor de 45 minutos por paciente.

Se definió como signos de aterosclerosis precoz un GIM carotídeo y femoral por encima del percentil 75 (P75) según los valores de referencia por edad y sexo para población española definidos por M. Junyen y col. en 2005 (118) y 2008 (33).

## 6.5 Metodología estadística

Se realizó un análisis descriptivo de los datos de interés donde las variables continuas se resumieron mediante la media y desviación estándar y/o mediana y valor mínimo y valor máximo, dependiendo de si seguían una distribución normal o no. Las variables categóricas se describieron mediante el número de casos válidos y % de cada categoría. Para ver si existían diferencias entre sexos en cuanto a factores de riesgo cardiovascular y complicaciones crónicas se utilizó el test exacto de Fisher. Para ver si existían diferencias entre pacientes con complicaciones crónicas clínicas y los que no en cuanto a factores de riesgo cardiovascular y control glucémico se utilizó el test exacto de Fisher y T-test respectivamente de acuerdo la naturaleza de las variables.

Con los resultados del TCMD, se realizó un análisis comparativo/bivariante para ver si existían diferencias significativas entre los pacientes que presentaron lesiones en el TCMD y los que no, en cuanto a control glucémico, factores de riesgo cardiovascular, complicaciones crónicas, iEAT, GIM carotideo, marcadores de inflamación y composición de las HDL. Posteriormente se realizó un análisis mediante regresión logística para identificar cuáles de dichos factores determinaban de forma independiente la presencia de posibles lesiones (apartado 6.5.1).

Con los resultados de la ecografía - doppler también se realizó un análisis bivariante para determinar qué variables (control glucémico, factores de riesgo cardiovascular, complicaciones crónicas, marcadores de inflamación y composición de las HDL) influían en el GIM de los diferentes territorios vasculares explorados. Para ver si el GIM era estadísticamente significativo en la diferencia de medias o porcentajes en cada categoría de las variables analizadas se utilizó el contraste T-test, o el test exacto de Fisher o Chi cuadrado respectivamente. Para determinar la asociación entre GIM y las variables cuantitativas se utilizó la correlación de Pearson para las variables que

seguían una distribución normal y una Rho de Spearman para aquellas variables no paramétricas. Para mostrar el análisis descriptivo del territorio carotideo, femoral y poplíteo, se llevó a cabo una dicotomización de las variables continuas GIM carotideo medio, GIM carotideo máximo, GIM femoral medio y GIM femoral máximo, y GIM poplíteo medio y GIM poplíteo máximo mediante el P75. En el apartado de resultados se muestran los datos más relevantes (territorio carotídeo y femoral).

Por último se realizó un análisis bivalente para determinar qué variables (control glucémico, factores de riesgo cardiovascular, factores asociados a resistencia a la insulina y síndrome metabólico, complicaciones crónicas, marcadores de inflamación y composición de las HDL) se relacionaban de forma significativa con el iEAT y posteriormente un análisis de regresión lineal múltiple para determinar aquellas que influían de forma independiente en el iEAT que se resumen en el apartado 6.5.2.

Para todas las comparaciones se consideró un nivel de significación estadística del 5% ( $\alpha < 0,05$ ), los intervalos de confianza fueron del 95%, una potencia del 80% ( $\beta=0,20$ ) y aproximación bilateral.

El estudio fue un análisis exploratorio sobre la población de DM1 de nuestro hospital que cumplía una serie de características, por lo que no hubo una estimación previa del tamaño de la muestra que permitiera asegurar la potencia necesaria para obtener resultados estadísticamente significativos.

Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SPSS versión 15.0.

### **6.5.1 Análisis estadístico para definir la presencia de lesiones en la tomografía computarizada multidetectora.**

Para ver si existían diferencias significativas entre los pacientes que presentaban algún grado de lesión en el TCMD y los que no, se compararon los dos grupos de estudio (lesiones/no lesiones) utilizando tests paramétricos (t-test) o no paramétricos (Mann-Whitney) para las variables cuantitativas (según se mostrase o no normalidad de las mismas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov), y tests de Chi-cuadrado o tests exactos de Fisher cuando fue necesario para el resto de variables categóricas.

Se realizó un análisis de independencia de las variables predictivas o explicativas. Para llevar a cabo el modelo de regresión logística se analizó primero la posible colinealidad (independencia) de las variables explicativas que en el análisis de contraste se mostraron estadísticamente significativas. Para ello se realizó un análisis de correlación de Pearson entre las variables cuantitativas que permitiera determinar posibles dependencias entre ellas para las poblaciones de pacientes sin lesiones y con lesiones. Algunas variables originalmente policotómicas con más de dos categorías como las variables Retinopatía, Nefropatía o Arteriopatía ocluyente, se transformaron en variables dicotómicas agrupando categorías con el fin de facilitar la interpretación de los resultados. Se trabajó en el análisis de regresión con las variables transformadas. Posteriormente se realizó un análisis factorial de componentes principales con el objetivo de obtener información adicional sobre la independencia de las variables explicativas para su selección e inclusión en el modelo multivariante. Para realizar el análisis de regresión logística binaria finalmente se realizó el método de pasos hacia delante (Forward stepwise) para la inclusión de las variables independientes o explicativas. Todas aquellas variables dicotómicas fueron transformadas por el sistema

a variables dummy, definiéndose tantas nuevas variables como categorías tuviese la variable original. Se seleccionaron para introducir en el análisis de regresión aquellas que mostraron significación estadística y aquellas que aun no mostrando significación estadística consideramos de relevancia clínica. Para la bondad de ajuste se utilizó la prueba de Hosmer & Lemeshow. Se realizó la curva ROC del modelo definido por el análisis de regresión logística que consideramos más adecuado por estar ajustado por sexo. Se eligió dicho modelo teniendo en cuenta los datos obtenidos sobre la bondad de ajuste, variabilidad explicada, la tabla de clasificación, evaluando minuciosamente los falsos positivos y negativos fundamentalmente, así como los valores de la curva ROC.

### **6.5.2 Análisis estadístico para la evaluación del índice de volumen de grasa epicárdica**

Se evaluó la asociación entre el control glucémico, factores de riesgo cardiovascular, factores asociados a resistencia a la insulina y síndrome metabólico, complicaciones crónicas, marcadores de inflamación, lípidos y composición HDL con el iEAT. Para ver si la variable iEAT era estadísticamente significativa en la diferencia de medias en cada categoría de las variables analizadas se utilizó el contraste T-test. Se estableció como nivel de significación un  $\alpha \leq 0,05$ . Para determinar la asociación entre iEAT y las variables cuantitativas se utilizó la correlación de Pearson para las variables que seguían una distribución normal y una Rho de Spearman para aquellas variables no paramétricas. Se realizó un análisis de independencia de las variables que mostraron significación estadística respecto la variable iEAT de los análisis anteriores.

Para construir el modelo de regresión lineal múltiple para iEAT se utilizaron las variables que fueron estadísticamente significativas y aquellas con relevancia clínica. Se realizó el método de pasos hacia delante (Forward stepwise) para la inclusión de las

variables independientes o explicativas. Para evaluar el ajuste del modelo de Regresión a los datos observados se utilizaron diferentes estadísticos como el Coeficiente de correlación múltiple ( $R$ ) y el coeficiente de determinación ( $R^2$ ). El primero informa de la correlación lineal entre los datos observados y los valores predichos por el modelo. El que más interesa es el segundo parámetro estadístico, que explica el porcentaje de varianza explicada por la recta de regresión del modelo. Finalmente se realizó un análisis de residuos para verificar la bondad y robusted del modelo.

## **7 RESULTADOS**

### **7.1 Población de estudio: características clínicas y control evolutivo**

Se identificaron 130 pacientes diagnosticados de DM1 en el periodo comprendido entre 1985 y 1994 y que siguieron controles regulares desde el diagnóstico hasta el 2011 en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Se logró contactar directamente con 102 pacientes. De ellos, 23 rechazaron participar en el estudio por falta de tiempo; los 79 pacientes restantes acudieron a la visita de estudio y 77 aceptaron participar.

#### **7.1.1 Características generales de la población de estudio**

En la Tabla 1 se muestran las características demográficas de los pacientes incluidos, así como las variables relacionadas con la diabetes, la prevalencia de los factores de riesgo cardiovascular y la proporción de pacientes con tratamiento para reducir el riesgo cardiovascular. El 60% eran hombres, la media de evolución de la diabetes fue de 22,4 años y todos seguían tratamiento con terapia intensiva. Cerca del 29% eran hipertensos con tratamiento hipotensor y 2 pacientes no hipertensos recibían tratamiento antihipertensivo debido a la presencia de nefropatía diabética. Cerca del 47% de los pacientes presentaban dislipemia y 42,9% seguían tratamiento con estatinas. Destaca el elevado número de fumadores y exfumadores, 35,1% y 29,9% respectivamente. No observamos diferencias significativas en la distribución de los factores de riesgo cardiovascular por sexos (Tabla 2).

TABLA 1. Características generales de los pacientes

CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES		N= 77
Hombres/mujeres		46 (59,7)/ 31 (40,3)
Edad (años)		47,1 ± 8,6
CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS CON LA DIABETES TIPO 1		
Edad al diagnóstico (años)		24,8 ± 8,7
Tiempo de evolución de la enfermedad (años)		22,4 ± 2,2
Pauta bolus-basal con análogos/ISCI		65 (84,4)/11 (14,3)
Dosis de insulina (ui/kg/día)		0,66 ± 0,22
FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR		
Hipertensión		22 (28,6)
Dislipemia		36 (46,8)
Sobrepeso/obesidad		31 (40,3) / 16 (20,8)
- IMC global/ IMC ♂ / IMC ♀ (kg/m <sup>2</sup> )		26,9 ± 4,5/ 27,8 ± 4,2/ 25,5 ± 4,7
- Perímetro de cintura ♂ /♀ (cm)		98,5 ± 11,3/ 87,2 ± 12,0
Tabaquismo activo/exfumadores		27 (35,1)/23 (29,9)
Sedentarismo		17 (22,1)
Síndrome metabólico		25 (32,5)
TRATAMIENTO		
Antihipertensivo		24 (31,2)
Estatinas		33 (42,9)
Antiagregante		29 (37,7)

ISCI: infusión subcutánea de insulina; IMC: índice de masa corporal; Las variables cualitativas se expresan como n (%) y las variables cuantitativas como media ± desviación estándar.

TABLA 2. Distribución de los factores de riesgo cardiovascular por sexos

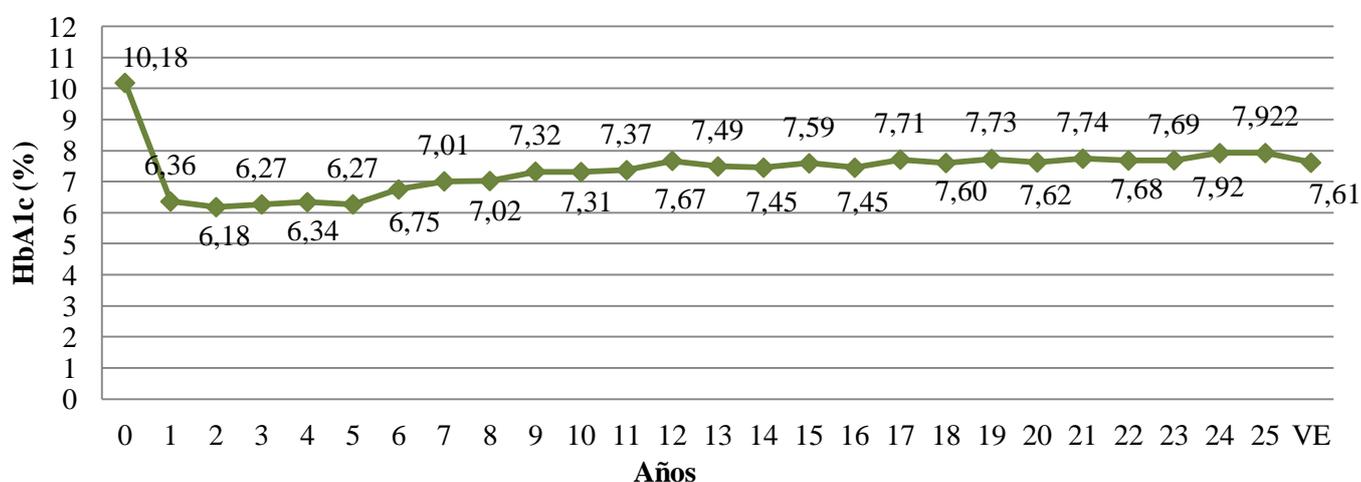
Factores de riesgo	Hombres n (% de ♂)	Mujeres n (% de ♀)	p valor*
Hipertensión	15 (32,6)	7 (22,6)	0,24
Dislipemia	20 (43,5)	16 (51,6)	0,32
Obesidad	12 (26,1)	4 (12,9)	0,13
Tabaquismo	32 (69,6)	18 (58,1)	0,21

\*Estadístico de contraste:  $\chi^2$  (Estadístico exacto de Fisher-bilateral)

### 7.1.2 Evolución del control glucémico, índice de masa corporal y parámetros lipídicos desde el diagnóstico de la diabetes

La evolución del control glucémico desde el diagnóstico valorado por la HbA<sub>1c</sub> media anual se muestra en la Figura 1.

FIGURA 1. Control glucémico (HbA<sub>1c</sub> media anual) desde el debut de la diabetes tipo 1



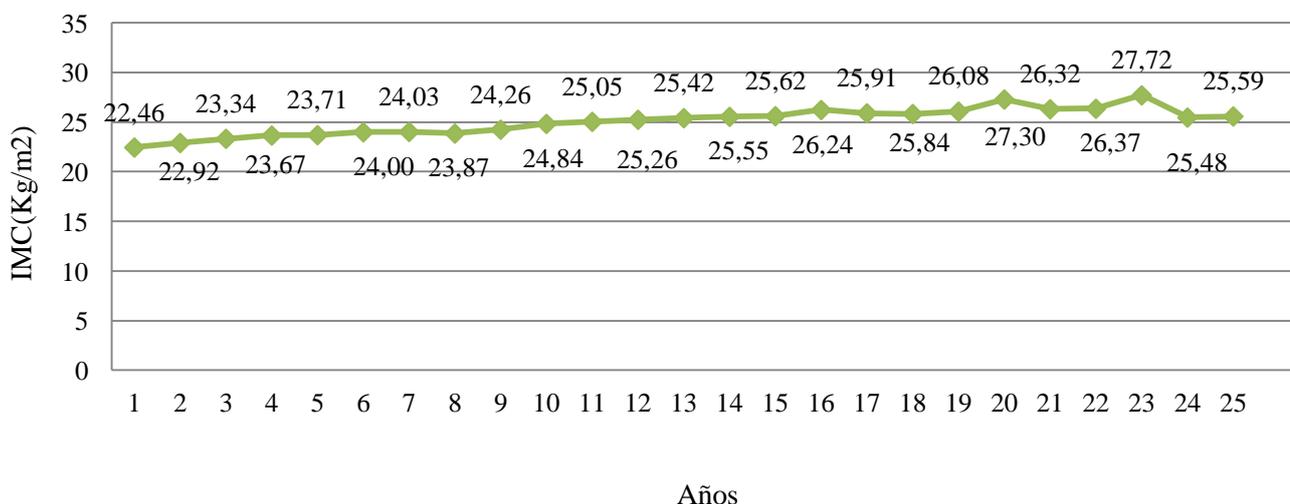
VE: visita del estudio

Al determinar la HbA<sub>1c</sub> media por periodos de tiempo, objetivamos que la HbA<sub>1c</sub> media de los primeros 5 años fue de  $6,37 \pm 1,15$  %, la de los primeros 10 años de  $6,77 \pm 0,99$ % y la global del seguimiento de  $7,20 \pm 0,79$ %. En los primeros 5 años de evolución, el 27,4%, de los pacientes tenían una HbA<sub>1c</sub> media  $\leq 7$ % y el 80,8% de los

pacientes una HbA<sub>1c</sub> media  $\leq 7,5\%$ . A lo largo de todo el seguimiento, el 32,9% de los pacientes presentaron una HbA<sub>1c</sub> media  $\leq 7\%$  y el 59,2% de los pacientes una HbA<sub>1c</sub> media  $\leq 7,5\%$ .

En la Figura 2 se muestra la evolución del IMC desde el debut de la enfermedad. El IMC medio se mantuvo por debajo de 25 kg/m<sup>2</sup> los primeros 11 años de evolución, aumentando posteriormente hasta 27 kg/m<sup>2</sup> a los 23 años de seguimiento.

FIGURA 2. Evolución del índice de masa corporal medio anual (kg/m<sup>2</sup>) desde el debut de la diabetes tipo 1

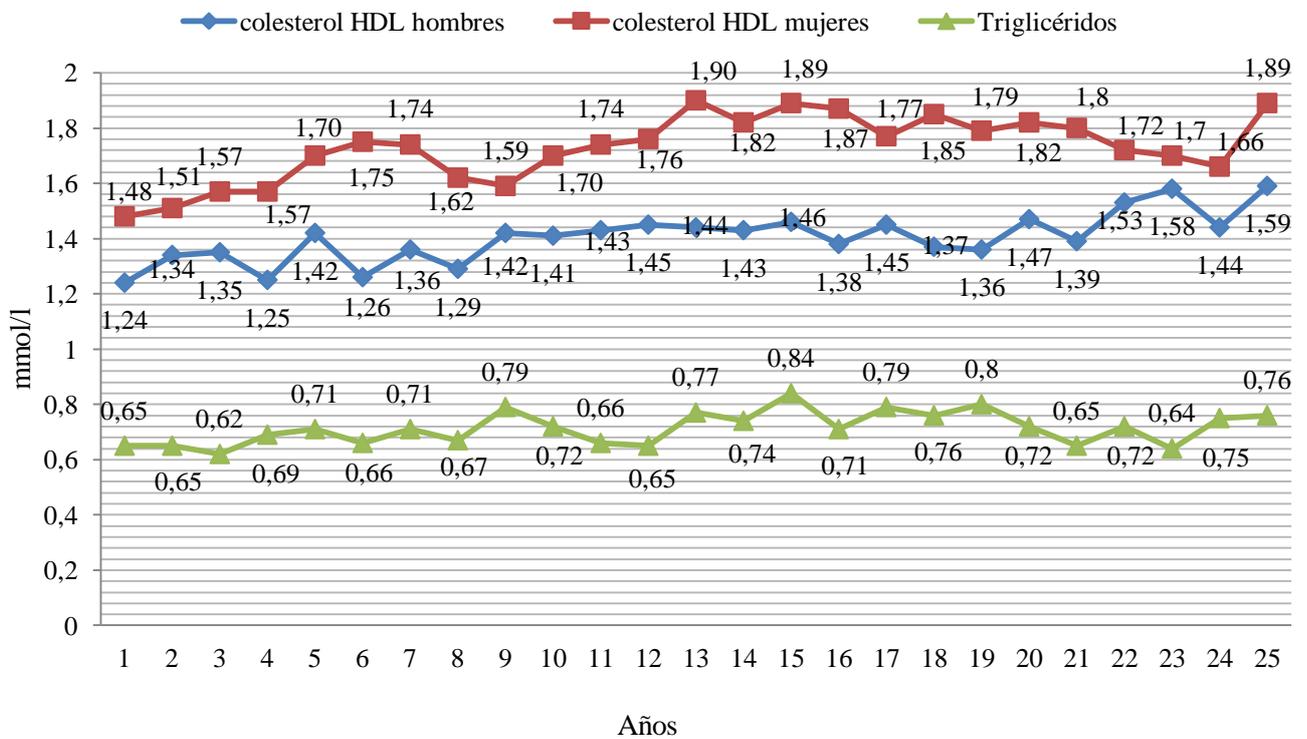


La evolución del perfil lipídico desde el debut se recoge en las Figuras 3 y 4. A lo largo de la evolución (Figura 3) un 32,5% de pacientes presentaron una concentración media de colesterol LDL siempre por debajo de 2,6 mmol/l (100mg/dl) y un 92,2% de pacientes mantuvieron los niveles de triglicéridos (Figura 4) siempre por debajo de 1,7 mmol/l (150mg/dl). Con respecto al colesterol HDL (Figura 4) un 80% de hombres y el 100% de las mujeres mantuvieron el colesterol HDL en valores considerados normales [ $> 1,05\text{mmol/l}$  (40mg/dl) ♂ y  $> 1,3\text{mmol/l}$  (50mg/dl) ♀ respectivamente] a lo largo de toda la evolución.

FIGURA 3. Evolución del valor medio del colesterol LDL (mmol/L) por año desde el debut



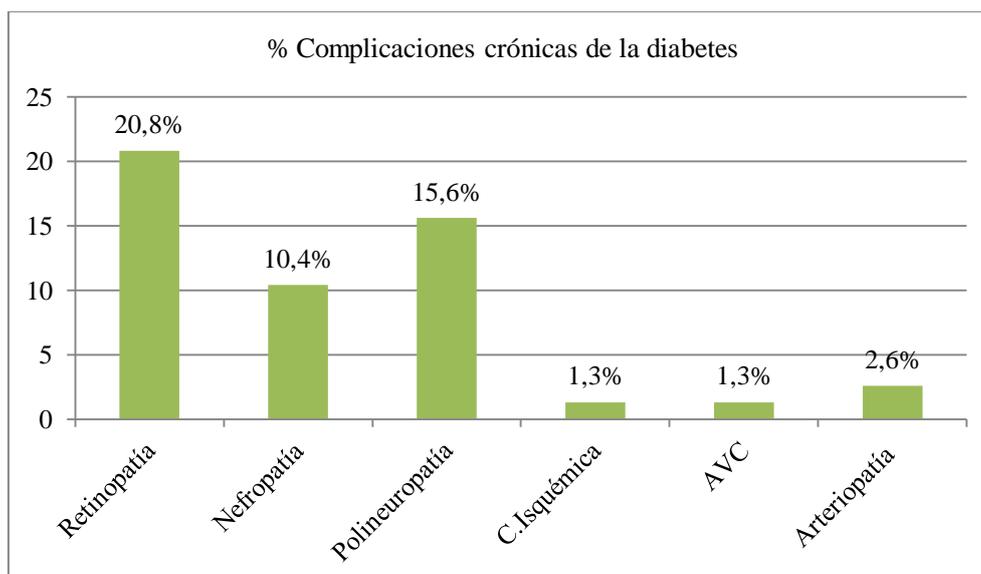
FIGURA 4. Evolución del perfil lipídico: valor medio del colesterol HDL (mmol/l) y triglicéridos (mmol/l) por año desde el debut de la diabetes tipo 1



### 7.1.3 Prevalencia de complicaciones crónicas

En la Figura 5 aparece representada la prevalencia de las complicaciones crónicas detectadas, y en la Tabla 3 se muestra la prevalencia por sexos.

FIGURA 5. Prevalencia de las complicaciones crónicas de la diabetes tipo 1



C. Isquémica: cardiopatía isquémica; AVC: accidente cerebro vascular.

TABLA 3. Prevalencia de las complicaciones crónicas por sexos

Complicaciones crónicas	Hombres n (% ♂)	Mujeres n (% ♀)	p valor*
Retinopatía	10 (22,2)	6 (19,3)	0,50
Nefropatía	3 (6,5)	5 (16,1)	0,17
Polineuropatía	7 (15,2)	5 (16,1)	0,58
Macroangiopatía	2 (4,4)	1 (3,2)	0,47

\* Estadístico de contraste:  $\chi^2$  (Estadístico exacto de Fisher-bilateral-).

Los pacientes sin complicaciones tardías, comparados con los que las desarrollaron, presentaron mejor control glucémico en los primeros 5 años y también a

lo largo de todo el seguimiento (Tabla 4). El patrón de factores de riesgo cardiovascular tiende a ser más desfavorable en los que desarrollaron complicaciones, aunque únicamente el tabaquismo alcanzó la significación estadística (Tabla 4).

TABLA 4. Diferencias en los factores de riesgo cardiovascular y control glucémico en pacientes con o sin complicaciones crónicas

N= 77	Sin complicaciones n= 51	Con complicaciones n=26	P valor
<b>% Tabaquismo</b>	<b>58,8</b>	<b>76,9</b>	<b>0,09*</b>
% Dislipemia	43,1	53,8	0,26*
% Hipertensión	21,6	42,3	0,052*
% Sedentarios	23,5	19,2	0,45*
<b>HbA<sub>1c</sub> media evolución</b>	<b>7,0 ± 0,7</b>	<b>7,6 ± 0,9</b>	<b>0,003**</b>
<b>HbA<sub>1c</sub> media 1<sup>os</sup> 5 años</b>	<b>6,1 ± 0,9</b>	<b>7,0 ± 1,4</b>	<b>0,001**</b>

Las variables cualitativas se expresan como % y las variables cuantitativas normales se expresan como media ± desviación estándar. \* Estadístico de contraste:  $\chi^2$  (Estadístico exacto de Fisher-bilateral-). \*\* Estadístico de contraste T-Test.

## 7.2 Prevalencia de la aterosclerosis subclínica.

La Tabla 5 muestra los hallazgos obtenidos con el estudio mediante la TCMD. El 50% de los pacientes no presentaron ninguna lesión y sólo 2 pacientes tenían lesiones significativas (obstrucción de la luz de más del 50%, respecto al diámetro luminal de referencia).

TABLA 5. Resultados de la tomografía computarizada multidetectora (N=72)

RESULTADOS DE LA TOMOGRAFIA COMPUTARIZADA MULTIDETECTORA	
No lesiones	36 pacientes (50 %)
Lesiones no significativas (< 50 %)	34 pacientes (47,2 %)
	Estenosis < 40 %: 30 pacientes (41,7 %)
	Estenosis 40-50 %: 4 pacientes (5,5 %)
Lesiones significativas (> 50 %)	2 pacientes (2,8 %)
iEAT (cc/m <sup>2</sup> de superficie corporal)	40,47 ± 22,18 // 38,05 (3,99; 114,69)*

iEAT: índice de tejido adiposo epicárdico. Las variables cualitativas se expresan como n (%).

\*La variable cuantitativa como Media ± Desviación Estándar // Mediana (Mínimo; Máximo)

Los resultados de la medición del GIM a nivel carotídeo, femoral y poplíteo en los hombres y mujeres con DM1 se reflejan en la Tabla 6. En todos los casos se muestra la mediana (Mínimo; Máximo) = ME (Mín; Máx) y la Media ± desviación estándar = M ± SD. No se objetivan diferencias significativas entre sexos.

TABLA 6. Grosor de la íntima media a nivel carotídeo, femoral y poplíteo

	Hombres n = 42		Mujeres n = 27		p valor
	ME (Mín; Máx)	M ± SD	ME (Mín; Máx)	M ± SD	
GIMcc máximo (mm)	0,58 (0,31; 0,99)	0,59 ± 0,15	0,51 (0,30;1,11)	0,54 ± 0,18	0,24
GIMcc medio (mm)	0,47 (0,27; 0,96)	0,48 ± 0,14	0,45 (0,23;0,92)	0,46 ± 0,15	0,50
GIMfc máximo (mm)	0,72 (0,41; 1,23)	0,73 ± 0,23	0,63 (0,39;1,63)	0,70 ± 0,27	0,31
GIMfc medio (mm)	0,55 (0,31; 1,12)	0,58 ± 0,20	0,48 (0,28;1,44)	0,57 ± 0,26	0,48
GIMp máximo (mm)	0,62 (0,24;1,13)	0,67 ± 0,23	0,57 (0,27;1,20)	0,61 ± 0,22	0,27
GIMp media (mm)	0,51 (0,24;0,95)	0,54 ± 0,18	0,45 (0,21;1,03)	0,49 ± 0,15	0,30

GIMcc: grosor de íntima media carotídeo; GIMfc: Grosor de íntima media femoral; GIMp: grosor de íntima media poplíteo. Las variables han sido contrastadas con U de Mann Whitney Test (sig. exacta bilateral)

Un 10% y un 24% de nuestros pacientes presentaron un GIM carotídeo y femoral, respectivamente, por encima del P75 una cohorte de referencia estudiada en Barcelona (118) (33), signo de aterosclerosis precoz.

### 7.3 Determinación de las variables analíticas en la visita del estudio

#### 7.3.1 Control glucémico, perfil lipídico, función hepática y marcadores de inflamación

En la Tabla 7 se muestran los parámetros de control glucémico, lipídico, función hepática y los marcadores de inflamación determinados a partir de la muestra de sangre recogida en la visita de estudio.

TABLA 7. Control glucémico, perfil lipídico, función hepática y marcadores de inflamación

Control glucémico, perfil lipídico, función hepática y marcadores de inflamación			
Variables	M ± SD	ME (Mín; Máx)	n
HbA <sub>1c</sub> (%)	7,61 ± 1,05	7,60 (5,5; 10,90)	75
Colesterol Total (mmol/l)	4,75 ± 0,72	4,68 (3,49; 7,00)	76
Triglicéridos (mmol/L)*	1,02 ± 0,88	0,80 (0,39; 7,12)	76
Colesterol HDL ♂/ ♀ (mmol/l)	1,37 ± 0,28/ 1,64 ± 0,25	1,36 (0,78; 2,29)/ 1,64 (1,02; 2,06)	46/ 30
Colesterol LDL (mmol/l)	2,80 ± 0,47	2,70 (1,81; 4,37)	76
Colesterol VLDL (mmol/l)	0,45 ± 0,32	0,37 (0,18; 2,41)	76
Apolipoproteína A-I (g/l)	1,60 ± 0,22	1,60 (2,09; 1,05)	72
Apolipoproteína B (g/l)	5,66 ± 42,29	0,77 (367,0; 0,52)	75
Apolipoproteína A-II (g/l)	0,34 ± 0,07	0,35 (0,13; 0,52)	73
Lipoproteína (a) (mg/L)	306,82 ± 445,36	98,80 (0,00; 2603)	75
NEFAS (mmol/L)	0,44 ± 0,25	0,44 (0,067; 1,21)	73
AST (U/L)	21,78 ± 16,10	19,00 (12; 150)	74
ALT (U/L)	21,41 ± 11,22	17,00 (80; 7)	74
FA (U/L)	76,39 ± 19,27	74 (45; 141)	72
GGT (U/L)	23,89 ± 15,50	18,00 (7; 84)	73
Interleucina 6 ( pg/ml)	2,22 ± 2,36	1,39 (0,01; 12,76)	73
Interleucina 10 (pg/ml)	7,84 ± 7,53	6,03 (1,04; 58,36)	73
TGF-β ( ng/ml)	25,41 ± 3,90	25,11 (14,55; 34;86)	73
Leptina (ng/ml)	1,51 ± 1,50	0,94 (0,08; 9,44)	73
Adiponectina (ug/ml)	11,47 ± 6,14	9,62 (2,07; 30,56)	73
Proteína C reactiva (mg/l)	3,40 ± 5,88	1,8 (0,6; 46,10)	73

M ± SD: Media ± desviación estándar; ME (Mín; Máx): Mediana (Mínimo; Máximo)

TGF-β: factor de crecimiento transformante beta; NEFAS: ácidos grasos no esterificados.

### **7.3.2 Propiedades biológicas y físico-químicas que modulan la capacidad antiaterogénica de las lipoproteínas de alta densidad**

En la Tabla 8 se muestran las variables relacionadas con las propiedades biológicas y físico-químicas que modulan la capacidad antiaterogénica de las HDL, incluyendo la cuantificación de las fracciones HDL2 y HDL3, la composición en lípidos y proteínas, las actividades enzimáticas, su capacidad antioxidante y la capacidad de promover el eflujo de colesterol de la HDL.

TABLA 8. Propiedades biológicas y físico-químicas que modulan la capacidad antiaterogénica de las lipoproteínas de alta densidad

Propiedades biológicas y físico-químicas que modulan la capacidad antiaterogénica de las lipoproteínas de alta densidad			
Variables	M ± SD	ME (Mín; Máx)	n
% HDL 2	54,42 ± 19,20	58,1 (2,9; 90,7)	73
% HDL 3	46,44 ± 21,61	41,9 (9,4; 133,6)	73
PON1 (umol/min*ml)	301,48 ± 75,62	297,0 (118,3; 540,4)	73
Lp PLA2 total (umol/min*ml)	19,27 ± 4,87	18,6 (9,3; 32,4)	73
Lp PLA2- HDL (umol/min*ml)	5,70 ± 1,56	5,4 (1,3; 12,8)	73
% Lp PLA2 HDL (umol/min*ml)*	31,78 ± 9,42	28,0 (12; 54)	73
% incr lag phase	85,32 ± 31,29	83,5 (19; 164)	72
% masa colesterol HDL	17,52 ± 1,76	17,7 (11,6; 21,5)	73
% masa Triglicéridos HDL	3,77 ± 1,52	3,7 (0,7; 9,2)	73
% masa phos HDL	28,65 ± 1,2,20	28,7 (22,4; 32,6)	73
% masa colesterol libre HDL	3,32 ± 0,57	3,30 (2,2; 4,6)	73
% masa colesterol éster HDL	14,19 ± 1,48	14,10 (9,3; 17,7)	73
% masa apo AI - HDL	38,20 ± 1,77	38,2 (32,5; 41,6)	73
% masa apo AII - HDL	9,60 ± 1,50	9,3 (6,6; 13,6)	73
% masa apo E - HDL	0,58 ± 0,51	0,6 (0,1; 1,6)	73
% masa apo CIII - HDL	1,68 ± 0,56	1,6 (0,5; 3,1)	73
% Eflujo de colesterol HDL	24,68 ± 7,91	24,1 (9,3; 52,5)	73

HDL: lipoproteínas de alta densidad; apo: apolipoproteína; PON1: actividad paraoxonasa 1; Lp-PLA2: actividad fosfolipasa A2 asociada a lipoproteínas; % incr lag phase: % incremento de fase de latencia (tiempo que se alarga esta fase en presencia de HDL respecto a la LDL sola) y que refleja la capacidad antioxidante de la HDL; % masa phos HDL: % masa fosfolípidos.

## **7.4 Comparación de los pacientes con y sin aterosclerosis subclínica**

### **7.4.1 Pacientes con y sin aterosclerosis subclínica evaluada mediante la tomografía computarizada multidetectora**

No fue posible determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes que presentaban signos de aterosclerosis precoz en la TCMD y los que no, dado el número reducido de pacientes (N=2) que presentaron estenosis superior al 50 %. En cambio al mirar si existían diferencias significativas entre los pacientes que presentaban algún grado de lesión (estenosis luminal mayor o menor del 50 %) en la TCMD y los que no, sí se objetivaron diferencias en cuanto al control glucémico, a la presencia de factores de riesgo cardiovascular clásicos y las diferentes características de las HDL (Tablas 9 y 10). En la Tabla 9 se muestran las diferencias en cuanto a factores de riesgo cardiovascular y complicaciones crónicas clínicas entre los pacientes con lesiones en la TCMD y los que no presentaban lesiones. En negrita se destacan aquellas variables (no actividad y tabaquismo) cuyas diferencias son estadísticamente significativas. Los resultados obtenidos de la Odds Ratio (OR) indican que la probabilidad de presentar lesiones es 6,25 veces mayor para aquellos pacientes fumadores o exfumadores que para los que nunca lo han sido. Una variable potencial a considerar es el sexo, con un p-valor = 0,090, la cual nos indica que los hombres tienen un 38% más de probabilidades que las mujeres de presentar lesiones. Sin embargo, su intervalo de confianza (95%) contiene el 1, indicando que los datos actuales no permiten evidenciar su significación estadística en relación a la presencia de lesiones. En cuanto a la actividad física, la OR indica que una persona que no realiza actividad física (sedentario) tiene un 22% más de probabilidad de tener lesiones que una que es activa.

TABLA 9. Diferencias en los factores de riesgo cardiovascular y complicaciones crónicas clínicas entre los pacientes con y sin lesiones en la tomografía computarizada multidetectora; Odds ratio y p-valor

	LESIONES		NO LESIONES		OR (IC 95%)	p-valor*
	N	%	N	(%)		
<b>SEXO</b>						
Hombre	26	72,2	18	50	0,38 (0,14; 1,02)	0,090
Mujer	10	27,8	18	50		
<b>HIPERTENSIÓN</b>						
no	23	63,9	28	77,8	1,98 (0,70; 5,59)	0,300
si	13	36,1	8	22,2		
<b>DISLIPEMIA</b>						
no	15	41,7	23	63,9	2,48 (0,96; 6,40)	0,098
si	21	58,3	13	36,1		
<b>ACTIVO</b>						
no	13	36,1	4	11,1	0,22 (0,06; 0,77)	<b>0,025</b>
si	23	63,9	32	88,9		
<b>TABAQUISMO</b>						
nunca	6	16,7	20	55,6	6,25 (2,09; 18,69)	<b>0,001</b>
activo/ex fumador	30	83,3	16	44,4		
<b>RETINOPATÍA</b>						
no	29	80,6	30	85,7	1,45 (0,41; 5,09)	0,753
si	7	19,4	5	14,3		
<b>NEFROPATÍA</b>						
no	30	83,3	34	94,4	3,40 (0,64; 18,13)	0,260
si	6	16,7	2	5,6		
<b>POLINEUROPATÍA</b>						
no	30	83,3	32	88,9	1,60 (0,41; 6,23)	0,735
si	6	16,7	4	11,1		
<b>ARTERIOPATÍA</b>						
no	35	97,2	36	100	-	1,000
si	1	2,8	-	-		

\*Estadístico de contraste:  $\chi^2$  (Estadístico exacto de Fisher-bilateral-).

En la Tabla 10 se muestran las diferencias en cuanto a control glucémico, parámetros relacionados con síndrome metabólico, la composición y otras características de las HDL, así como otros marcadores de aterosclerosis precoz (GIM carotídeo) e iEAT, entre los pacientes con lesiones en la TCMD y aquellos que no tienen lesiones. Se muestra, además, la significación estadística (p-valor) de la diferencia de medias para las variables que siguen una distribución normal y la de medianas para variables no paramétricas (p-valor indicado con \*). En negrita se destacan aquellas variables que muestran significación estadística con un valor de p inferior al 5%. Destaca que los pacientes con lesiones presentan una edad media superior a la de los pacientes sin lesiones ( $51,1 \pm 9,1$  vs.  $43,2 \pm 6,1$  años;  $p < 0,001$ ), peor control glucémico durante el seguimiento ( $7,4 \pm 0,8$  vs.  $7,0 \pm 0,7$  %;  $p = 0,047$ ), y que el iEAT es claramente superior en los pacientes con lesiones que en aquellos que no las presentan ( $48,7 \pm 21,8$  vs.  $32,3 \pm 19,6$  cc/m<sup>2</sup> de superficie corporal;  $p = 0,001$ ). Por otro lado, aunque no existen diferencias significativas en los niveles de HDL, sí se objetivan diferencias en su composición entre los pacientes con lesiones y sin lesiones. Los pacientes con lesiones presentan HDL más pobres en colesterol, más ricas en apo A-II y con mayor actividad de Lp PLA2.

TABLA 10. Diferencias en el control glucémico, parámetros relacionados con síndrome metabólico, composición de las lipoproteínas de alta densidad y otros marcadores de aterosclerosis precoz en pacientes con y sin lesiones en la tomografía computarizada multidetectora; Odds ratio y p-valor

	LESIONES		NO LESIONES		Diferencia de medias	p-valor
	M ± SD	ME (Mín; Máx)	M ± SD	ME (Mín; Máx)		
<b>HbA<sub>1c</sub> media</b>	<b>7,4 ± 0,8</b>	<b>7,2 (6,0; 9,3)</b>	<b>7,0 ± 0,7</b>	<b>6,9 (5,6; 8,3)</b>	<b>0,4 ± 0,2</b>	<b>0,047</b>
<b>Edad (años)</b>	<b>51,1 ± 9,1</b>	<b>51,5 (31,0; 75,0)</b>	<b>43,2 ± 6,1</b>	<b>42,0 (35,0; 56,0)</b>	<b>7,9 ± 3,0</b>	<b>&lt;0,001</b>
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	27,2 ± 4,4	26,4 (21,5; 43,2)	26,7 ± 5,0	25,4 (20,4; 45,6)	0,5 ± 0,6	0,644
Cintura (cm)	96,0 ± 12,1	95,5 (75,0; 125,0)	92,0 ± 13,8	89,5 (71,0; 141,0)	4,0 ± 1,7	0,194
<b>iEAT (cc/m<sup>2</sup> de superficie corporal)</b>	<b>48,7 ± 21,8</b>	<b>47,3 (17,9; 114,7)</b>	<b>32,3 ± 19,6</b>	<b>29,2 (4,0; 95,6)</b>	<b>16,4 ± 2,3</b>	<b>0,001</b>
<b>GIMccmax(mm)</b>	<b>0,6 ± 0,2</b>	<b>0,6 (0,3; 1,1)</b>	<b>0,5 ± 0,1</b>	<b>0,5 (0,3; 0,8)</b>	<b>0,1 ± 0,1</b>	<b>0,027</b>
Triglicéridos (mmol/L)	1,2 ± 1,2	0,8 (0,4; 7,1)	0,8 ± 0,4	0,8 (0,4; 2,2)	0,4 ± 0,8	0,164*
cHDL (mmol/l)	1,5 ± 0,3	1,5 (0,8; 2,3)	1,5 ± 0,3	1,5 (0,8; 2,0)	0,0 ± 0,0	0,988
Lp PLA2 total (umol/min*ml)	18,2 ± 4,6	17,4 (11,9; 30,9)	20,1 ± 5,2	19,9 (9,3; 32,4)	1,9 ± 0,6	0,113
<b>%LpPLA2-HDL (umol/min*ml)</b>	<b>33,9 ± 9,6</b>	<b>34,0 (17,0; 53,0)</b>	<b>28,1 ± 8,9</b>	<b>27,0 (12,0; 54,0)</b>	<b>5,8 ± 0,7</b>	<b>0,007*</b>
<b>Masa colesterol HDL (%)</b>	<b>17,1 ± 2,0</b>	<b>17,5 (11,6; 21,5)</b>	<b>18,0 ± 1,4</b>	<b>18,1 (15,3; 20,8)</b>	<b>0,9 ± 0,7</b>	<b>0,041</b>
<b>ApoAII- HDL (%)</b>	<b>10,0 ± 1,5</b>	<b>9,7 (7,8; 13,6)</b>	<b>9,2 ± 1,4</b>	<b>8,9 (6,6; 13,0)</b>	<b>0,8 ± 0,1</b>	<b>0,027</b>

\*U de Mann Whitney Test (sig. exacta bilateral); el resto de variables han sido contrastadas con T-Test (sig. bilateral). IMC: índice de masa corporal; iEAT: índice de volumen de tejido adiposo epicárdico ajustado por superficie corporal; GIMccmax: Grosor de íntima media carotídea máximo; cHDL: colesterol HDL; LpPLA2 total: fosfolipasa A2 asociada a lipoproteína total en suero; % Lp PLA2-HDL: % actividad de fosfolipasa A2 asociada a lipoproteína en las HDL. ApoAII-HDL: apolipoproteína A-II ligada a HDL.

Para determinar qué variables explicaban de forma independiente la presencia de lesiones se realizó un modelo de regresión logística, para ello se analizó primero la posible colinealidad de las variables explicativas que en el análisis de contraste se mostraron estadísticamente significativas. El análisis de correlación de Pearson entre las variables cuantitativas que permite determinar posibles dependencias entre ellas para las poblaciones de pacientes sin lesiones y con lesiones se muestra en el Anexo 1 y 2. En las Tablas del Anexo 1 y 2 se han destacado en negrita las correlaciones con valores superiores a 0,4. Hay una correlación entre las variables % masa de colesterol HDL y % masa apo AII-HDL de -0,580 y otra entre las variables % de Apo AII- HDL e iEAT de 0,418.

En el Anexo 3 se muestran las figuras resultado del análisis factorial de componentes principales así como la matriz de componentes rotados con el peso de cada una de las variables cualitativas y cuantitativas. Son gráficos de dos componentes en espacio rotado (según rotación Varimax). La distribución de las variables en este espacio permite determinar la colinealidad entre algunas de ellas así como la influencia que tienen a la hora de discriminar entre poblaciones de pacientes con lesiones y sin lesiones. En la matriz de componentes rotados de las variables cualitativas se ha destacado en negrita aquellas variables que muestran un peso superior a 0,5. Cuanto mayor es el peso mayor es la influencia que tiene la variable en el factor y por tanto en la varianza explicada por la variable que queremos explicar (lesiones/no lesiones). Además podemos evidenciar la colinealidad entre algunas de ellas. Por ejemplo, las variables % masa colesterol HDL y % masa apo AII-HDL tienen prácticamente el mismo peso en el mismo factor pero en sentido opuesto, indicando que tienen la misma influencia sobre la variable explicativa pero en sentido contrario una de otra. La variable edad se destaca, en el segundo factor, como una variable de mayor influencia, respecto

del resto, sobre la presencia de lesiones. En cuanto a la matriz de las variables cuantitativas, las tres parecen claramente independientes, teniendo pesos superiores a 0,5.

Finalmente las variables explicativas que se introdujeron en el análisis de regresión fueron: actividad, tabaquismo, HbA<sub>1c</sub>media, edad, iEAT, GIM carotídeo máximo, % LpPLA2-HDL, % masa apoAII-HDL y sexo. Se eliminó la variable % masa colesterol HDL por estar correlacionada con apoAII-HDL, mostrando esta última mayor significación estadística y mayor peso en la matriz de componentes principales. Aunque la variable sexo no se muestra estadísticamente significativa, se introdujo en el análisis por su relevancia clínica.

En la Tabla 11 se muestra el modelo final, en el cual las variables seleccionadas fueron: sexo, tabaquismo, edad y % de LpPLA2-HDL.

TABLA 11. Modelo final

	Coeficiente B	E.T.	Wald	p-valor	OR (IC 95%)
Sexo	-1,568	0,773	4,121	0,042	0,21 (0,05 ; 0,95)
Tabaquismo	2,671	0,869	9,441	0,002	14,46 (2,63 ; 79,47)
Edad	0,157	0,059	6,971	0,008	1,17 (1,04 ; 1,31)
%LpPLA2-HDL	0,100	0,046	4,818	0,028	1,11 (1,01 ; 1,21)
constante	-11,475	3,364	11,637	0,001	

ET: error estándar; Wald: estadístico de Wald de contraste de hipótesis (siendo H<sub>0</sub>:

B=0), OR: Odds Ratio; IC: Intervalo de Confianza.

Las Tablas 11a y 11b muestran la variabilidad explicada por el modelo y la bondad de ajuste del modelo respectivamente, sobre los datos utilizados. La Tabla 11c presenta los datos de clasificación obtenidos por el modelo.

TABLA 11a. Resumen del modelo

<b>Resumen del modelo</b>		
-2 log de la verosimilitud	R cuadrado de Cox y Snell	R cuadrado de Nagelkerke
<b>50,059<sup>c</sup></b>	<b>,439</b>	<b>,586</b>

TABLA 11b. Prueba de bondad del ajuste de Hosmer & Lemeshow

<b>Prueba de Hosmer y Lemeshow</b>		
Chi cuadrado	gl	Sig.
<b>8,921</b>	<b>8</b>	<b>,349</b>

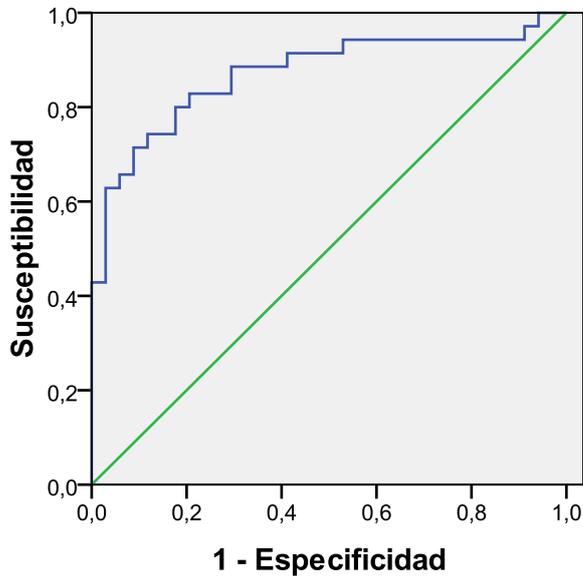
TABLA 11c. Clasificación de los casos

<b>Tabla de clasificación</b>			
Observado	Pronosticado		Porcentaje correcto
	NO LESIONES	SI LESIONES	
<b>NO LESIONES</b>	<b>26</b>	<b>5</b>	<b>83,9</b>
<b>SI LESIONES</b>	<b>6</b>	<b>25</b>	<b>80,6</b>
<b>Porcentaje global</b>			<b>82,3</b>

Objetivamos por tanto que los factores que se relacionan de forma independiente y predicen mejor la presencia de lesiones son en nuestra muestra la edad, el sexo, el tabaco y el % de LpPLA2 unido a HDL.

La Figura 7 muestra la curva ROC (Receiver Operating Characteristic) del modelo definido por el análisis de regresión logística.

Figura 7. Curva ROC del modelo



El área bajo la curva aumenta hasta 0,871 con un intervalo de confianza (95%) de 0,783 a 0,959 siendo estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ).

La ecuación de regresión logística del modelo final sería:  $\text{Logit}(p) = -11,475 - 1,568 (\text{Sexo}) + 2,672 (\text{fumador}) + 0,157 (\text{edad}) + 0,100 (\% \text{LpPLA2-HDL})$

Siendo  $\text{Logit}(p) = \ln(p / (1-p)) = \ln(\text{odds})$ ;

Así, la probabilidad (p) de que un paciente presente lesiones quedaría definida por la siguiente fórmula:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-(-11,475 - 1,568 (\text{Sexo}) + 2,672 (\text{fumador}) + 0,157 (\text{edad}) + 0,100 ((\% \text{LpPLA2-HDL}))}}$$

#### 7.4.2 Pacientes con y sin aterosclerosis subclínica evaluada mediante la ecografía-doppler

A la hora de ver si existían diferencias significativas entre los pacientes que presentaban signos de aterosclerosis precoz por la ecografía (definido como grosor de íntima media carotídeo y femoral por encima del P75 según los valores de referencia por edad y sexo para población española definidos por M. Junyen y col. (118)(33)), no se encontraron diferencias significativas en cuanto a factores de riesgo cardiovascular (incluidos edad y sexo), control glucémico o síndrome metabólico. En cuando al GIM poplíteo no tenemos valores de referencia poblacional.

Se procedió entonces a mirar si existían diferencias entre los pacientes con GIM carotideo inferior vs. superior al P75 de nuestra propia muestra, así como entre los pacientes con GIM femoral inferior vs. superior al P75 de nuestra propia muestra.

En la Tabla 12 se muestran los parámetros descriptivos de los valores registrados del GIM carotídeo medio y máximo.

TABLA 12. Parámetros descriptivos del grosor de íntima medida carotídeo medio y máximo.

	N	Media $\pm$ DE	Mediana (Mín; Máx)	Percentil 75
GIM carotídeo medio	69	0,5 $\pm$ 0,1	0,5 (0,2; 1,0)	0,554
GIM carotídeo máximo	69	0,6 $\pm$ 0,2	0,5 (0,3; 1,1)	0,661

En la Tabla 13 se muestra las diferencias en cuanto a factores de riesgo cardiovascular y complicaciones crónicas entre los pacientes con GIM carotídeo medio y máximo según sean sus valores inferiores o superiores al P75. Se describe el número de casos (N), el porcentaje (%), el p-valor y la Odds Ratio (OR) con un intervalo de confianza del 95% (IC 95%).

TABLA 13. Diferencias en los factores de riesgo cardiovascular y complicaciones crónicas entre pacientes con un grosor de íntima media carotídeo medio y máximo inferior frente a superior al percentil 75

	GIM carotídeo medio		p-valor	OR (IC 95%)	GIM carotídeo máximo		p-valor	OR (IC 95%)
	< P 75 N (%)	> P 75 N (%)			< P 75 N (%)	> P75 N (%)		
<b>Sexo</b>								
Hombre	31 (58,5%)	11 (68,8%)	0,565	0,64 (0,19; 2,11)	32 (61,5%)	10 (58,8%)	1,000	1,12 (0,37; 3,42)
Mujer	22 (41,5%)	5 (31,3%)			20 (38,5%)	7 (41,2%)		
<b>Hipertensión</b>								
No	41 (77,4%)	8 (50,0%)	<b>0,057</b>	3,42 (1,0 ; 11,03)	38 (73,1%)	11 (64,7%)	0,547	1,48 (0,46; 4,76)
Si	12 (22,6%)	8 (50,0%)			14 (26,9%)	6 (35,3%)		
<b>Dislipemia</b>								
No	30 (56,6%)	8 (50,0%)	0,776	1,30 (0,4 ; 4,00)	30 (57,7%)	8 (47,1%)	0,576	1,53 (0,5 ; 4,61)
Si	23 (43,4%)	8 (50,0%)			22 (42,3%)	9 (52,9%)		
<b>Tabaquismo</b>								
Nunca	21 (39,6%)	4 (25,0%)	0,379	1,97 (0,5 ; 6,93)	20 (38,5%)	5 (29,4%)	0,572	1,50 (0,46; 4,90)
Activo/ex fumador	32 (60,4%)	12 (75,0%)			32 (61,5%)	12 (70,6%)		
<b>Complicaciones Crónicas</b>								
No	35 (66%)	11 (68,8%)	1,000	0,88 (0,27; 2,94)	35 (67,3%)	11 (64,7%)	1,000	1,12 (0,36; 3,55)
Si	18 (34%)	5 (31,3%)			17 (32,7%)	6 (35,3%)		

De las variables analizadas (sexo, hipertensión, dislipemia, tabaquismo y presencia de complicaciones crónicas clínicas), sólo la hipertensión parece presentar cierta diferencia de porcentaje entre los valores que definen el P75 de la variable GIM carotídeo medio. Estadísticamente no es significativa si consideramos el valor estándar de  $\alpha \leq 0,05$ , dado que su valor de p es algo superior (0,057). El resto de variables no son estadísticamente significativas en la diferencia de porcentajes entre valores de P75 de ninguna de las dos variables GIM carotídeo. Sin embargo si realizamos la comparación de medias aplicando el T-test con las variables cualitativas sí existen diferencias de GIM carotídeo medio entre los pacientes que presentan hipertensión (n = 20) y los que no (n = 49) con valores de 0,54 vs. 0,44 mm y valor de p = 0,009. De igual forma se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes que presentan dislipemia (n = 31) y los que no (n = 38) con valores medios de 0,51 vs. 0,43 mm respectivamente y valor de p= 0,034. También encontramos diferencias en cuanto a GIM carotídeo máximo entre los pacientes que presentan hipertensión (n = 20) y los que no (n = 49) (0,64 vs. 0,54 mm; p= 0,024).

Las Tablas 14a y 14b muestran las diferencias en cuanto a edad, control glucémico y factores relacionados con síndrome metabólico para GIM carotídeo medio y máximo según el P75. Los resultados indican que sólo existe diferencia significativa de la variable % masa colesterol éster HDL con un p-valor de 0,032 para GIM carotídeo medio. No existen diferencias significativas tampoco en cuanto al resto de los componentes de las HDL.

No hay ninguna variable cuantitativa que muestre correlación con GIM carotídeo medio o máximo aplicando las pruebas de Pearson/Spearman. Los valores del coeficiente de correlación no son superiores a 3,2.

TABLA 14a. Diferencias en la edad, control glucémico y factores relacionados con el síndrome metabólico entre pacientes con grosor de íntima media carotídeo medio inferior y superior al percentil 75

	GIM carotídeo medio				Diferencia de medias	p-valor
	< P75		> P75			
	N (M ± SD)	ME (Min; Max)	N (M ± SD)	ME (Min; Max)		
Edad (años)	53 (46,2 ± 8,8)	45,0 (31,0; 75,0)	16 (50,2 ± 7,8)	49,0 (38,0; 70,0)	4,0 ± 1,0	0,102
HbA1c media	51 (7,1 ± 0,7)	7,0 (5,6; 8,8)	16 (7,4 ± 1,0)	7,2 (6,4; 9,3)	0,3 ± 0,3	0,207
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	53 (26,8 ± 4,8)	25,4 (20,4; 45,6)	16 (28,2 ± 4,0)	28,0 (22,9; 34,3)	1,4 ± 0,9	0,256
Cintura (cm)	53 (93,3 ± 13,1)	92,0 (71,0; 141,0)	16 (98,1 ± 11,1)	99,0 (77,0; 121,0)	4,8 ± 2,0	0,193
Triglicéridos*	52 (1,0 ± 0,9)	0,8 (0,4; 7,1)	16 (1,2 ± 0,9)	0,8 (0,5; 3,3)	0,2 ± 0,1	0,619
Colesterol HDL	52 (1,5 ± 0,3)	1,5 (1,1; 2,1)	16 (1,4 ± 0,3)	1,5 (0,8; 2,0)	0,1 ± 0,1	0,252
% masa colesterol éster HDL	49 (14,4 ± 1,4)	14,5 (9,3; 17,7)	16 (13,5 ± 1,6)	13,8 (10,0; 16,4)	0,9 ± 0,2	0,032

\*U de Mann Whitney Test (sig. exacta bilateral); el resto de variables han sido contrastadas con T-Test (sig. bilateral); M ± SD: Media ± Desviación; ME (Mín; Máx): Mediana (mínimo y máximo).

TABLA 14b. Diferencias en la edad, control glucémico y factores relacionados con síndrome metabólico entre pacientes con grosor de íntima media carotídeo máximo inferior y superior al percentil 75

	GIM carotídeo máximo					
	< P75			> P75		
	N (M ± SD)	ME (Min; Max)	N (M ± SD)	ME (Min; Max)	Diferencia de medias	p-valor
Edad	52 (46,5 ± 8,7)	46,0 (31,0; 75,0)	17 (48,9 ± 8,6)	47,0 (36,0; 69,0)	2,5 ± 0,0	0,317
HbA1c media	50 (7,2 ± 0,8)	7,1 (5,6; 8,8)	17 (7,2 ± 0,9)	7,0 (6,2; 9,3)	0,0 ± 0,2	0,984
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	52 (26,9 ± 4,7)	25,5 (20,4; 45,6)	17 (27,8 ± 4,3)	28,5 (20,7; 34,3)	0,9 ± 0,4	0,506
Cintura (cm)	52 (93, ±13,4)	92,0 (71,0; 141,0)	17 (96,2 ± 10,8)	96,0 (77,0; 121,0)	2,4 ± 2,6	0,514
Triglicéridos*	51 (1,0 ± 1,0)	0,8 (0,4; 7,1)	17 (1,2 ± 0,8)	0,8 (0,5; 3,3)	0,2 ± 0,1	0,446
Colesterol HDL	51 (1,5 ± 0,3)	1,5 (1,1; 2,1)	17 (1,4 ± 0,3)	1,4 (0,8; 2,0)	0,1 ± 0,1	0,068

\*U de Mann Whitney Test (sig. exacta bilateral); el resto de variables han sido contrastadas con T- Test (sig. bilateral). M ± SD: Media ± Desviación; ME (Mín; Máx): Mediana (mínimo y máximo).

En la Tabla 15 se muestran los parámetros descriptivos de los valores registrados del GIM femoral medio y GIM femoral máximo.

TABLA 15. Parámetros descriptivos del grosor de íntima media femoral medio y máximo

	N	M ± SD	ME (Min; Max)	Percentil 75
GIM femoral medio	69	0,6 ± 0,2	0,5 (0,3; 1,4)	0,700
GIM femoral máximo	69	0,7 ± 0,2	0,7 (0,4; 1,6)	0,843

La Tabla 16 muestra las diferencias en los factores de riesgo cardiovascular y complicaciones crónicas entre los pacientes con GIM femoral medio y máximo inferior frente a superior al P75. Se describe el número de casos (N), el porcentaje (%), el p-valor y la Odds Ratio (OR) con su Intervalo al 95% (IC 95%).

No hay diferencias significativas en cuanto a las variables analizadas (sexo, hipertensión, dislipemia, tabaquismo y complicaciones crónicas) entre los pacientes con GIM femoral medio inferior al P75 y superior. Tampoco hay ninguna variable que sea estadísticamente significativa cuando se considera la GIM femoral máximo.

TABLA 16. Diferencias en los factores de riesgo cardiovascular y complicaciones crónicas entre los pacientes con grosor de íntima media femoral medio y máximo inferior frente a superior al percentil 75

	GIM femoral medio		p- valor	OR (IC 95%)	GIM femoral máximo		p- valor	OR (IC 95%)
	<P 75	> P 75			< P 75	> P 75		
	N (%)	N (%)			N (%)	N (%)		
<b>Sexo</b>								
hombre	32 (61,5%)	10 (58,8%)	1,000	1,12 (0,37; 3,42)	31 (59,6%)	11 (64,7%)	0,78 1	0,81 (0,2; 2,51)
mujer	20 (38,5%)	7 (41,2%)			21 (40,4%)	6 (35,3%)		
<b>Hipertensión</b>								
no	37 (71,2%)	12 (70,6%)	1,000	1,03 (0,3; 3,42)	37 (71,2%)	12 (70,6%)	1,00 0	1,03 (0,31; 3,42)
si	15 (28,8%)	5 (29,4%)			15 (28,8%)	5 (29,4%)		
<b>Dislipemia</b>								
no	30 (57,7%)	8 (47,1%)	0,576	1,53 (0,51; 4,61)	29 (55,8%)	9 (52,9%)	1,00 0	1,12 (0,37; 3,36)
si	22 (42,3%)	9 (52,9%)			23 (44,2%)	8 (47,1%)		
<b>Tabaquismo</b>								
nunca	19 (36,5%)	6 (35,3%)	1,000	1,06 (0,34; 3,31)	20 (38,5%)	5 (29,4%)	0,57 2	1,50 (0,46; 4,90)
Activo/ ex fumador	33 (63,5%)	11 (64,7%)			32 (61,5%)	12 (70,6%)		
<b>Complicaciones Crónicas</b>								
no	36 (69,2%)	10 (58,8%)	0,555	1,58 (0,51; 4,88)	36 (69,2%)	10 (58,8%)	0,55 5	1,58 (0,51; 4,88)
si	16 (30,8%)	7 (41,2%)			16 (30,8%)	7 (41,2%)		

Las Tablas 17a y 17b muestran las diferencias en la edad, control glucémico y factores relacionados con el síndrome metabólico para GIM femoral medio y máximo menor y mayor al P75. No observamos diferencias estadísticamente significativas para ninguna de las variables estudiadas.

TABLA 17a. Diferencias en la edad, control glucémico y factores relacionados con el síndrome metabólico en los pacientes con un grosor de íntima media femoral medio inferior frente a superior al percentil 75

	GIM femoral medio				Diferencia de medias	p-valor
	< P75		> P75			
	N (M ± SD)	ME (Min; Max)	N (M ± SD)	ME (Min; Max)		
Edad	52 (46,3 ± 8,3)	45,5 (31,0 ; 75,0)	17 (49,6 ± 9,4)	49,0 (35,0 ; 69,0)	3,3 ± 1,1	0,172
HbA1c media	50 (7,2 ± 0,8)	6,9 (5,6 ; 9,2)	17 (7,4 ± 0,8)	7,3 (6,4 ; 9,3)	0,2 ± 0,0	0,381
IMC (Kg/m2)	52 (27,5 ± 5,1)	26,4 (20,4 ; 45,6)	17 (26,1 ± 2,6)	25,6 (22,7 ; 32,4)	1,3 ± 2,5	0,168
Cintura (cm)	52 (94,9 ± 13,9)	93,8 (71,0 ; 141,0)	17 (93,1 ± 8,4)	92,0 (79,0 ; 109,0)	1,7 ± 5,5	0,628
Triglicéridos (mmol/l)*	51 (0,9 ± 0,6)	0,8 (0,4 ; 3,3)	17 (1,3 ± 1,5)	0,8 (0,5 ; 7,1)	0,3 ± 0,9	0,249
Colesterol HDL (mmol/l)	51 (1,5 ± 0,3)	1,5 (0,8 ; 2,1)	17 (1,5 ± 0,3)	1,4 (1,1 ; 2,0)	0,0 ± 0,0	0,868

\*U de Mann Whitney Test (sig. exacta bilateral); el resto de variables han sido contrastadas con T-Test (sig. bilateral). M ± SD: Media ± Desviación; ME (Mín; Máx): Mediana (mínimo y máximo).

Tabla 17b. Diferencias en la edad, control glucémico y factores relacionados con el síndrome metabólico entre los pacientes con grosor de íntima media femoral máximo inferior frente a superior al percentil 75

	GIM femoral máximo				Diferencia de medias	p-valor
	< P75		> P75			
	N	ME	N	ME		
	(M ± SD)	(Min; Max)	(M ± SD)	(Min; Max)		
Edad (años)	52	45,5	17	49,0	3,9 ± 0,6	0,111
	(46,1 ± 8,4)	(31,0; 75,0)	(50,0 ± 9,0)	(35,0 ; 69,0)		
HbA1c media (%)	50	7,0	17	7,1	0,1 ± 0,0	0,742
	(7,2 ± 0,8)	(5,6; 9,2)	(7,3 ± 0,8)	(6,4 ; 9,3)		
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	52	26,1	17	25,6	0,8 ± 2,2	0,549
	(27,3 ± 5,1)	(20,4 ; 45,6)	(26,5 ± 2,9)	(22,7 ; 32,4)		
Cintura (cm)	52	93,5	17	93,5	0,9 ± 6,0	0,737
	(94,7±14,0)	(71,0; 141,0)	(93,7 ± 8,0)	(79,0 ; 109,0)		
Triglicéridos* (mmol/l)	51	0,8	17	0,8	0,3 ± 1,0	0,553
	(0,9 ± 0,6)	(0,4; 3,3)	(1,3 ± 1,6)	(0,5 ; 7,1)		
Colesterol HDL (mmol/l)	51	1,5	17	1,4	0,0 ± 0,0	0,547
	(1,5 ± 0,3)	(0,8; 2,1)	(1,4 ± 0,3)	(1,1 ; 2,0)		

\*U de Mann Whitney Test (sig. exacta bilateral); el resto de variables han sido contrastadas con T-Test (sig. bilateral). M ± SD: Media ± Desviación; ME (Mín; Máx): Mediana (mínimo y máximo).

Cuando analizamos la existencia de diferencias en la presencia de síndrome metabólico, considerando en un único grupo a aquellos pacientes que presentaron o bien GIM carotideo o bien GIM femoral por encima del P75 de nuestra muestra frente a los que lo tenían por debajo, observamos que había más pacientes con síndrome metabólico en el grupo con GIM carotideo y/o femoral mayor al P75 (45,5 %) que en el grupo con

GIM carotideo y/o femoral menor al P75 (22,2 %) ( $p = 0,041$ ). No se objetivaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a edad, sexo o control glucémico.

Entre los pacientes que presentaron GIM poplíteo máximo y/o medio por encima del P75 frente a los que presentaron un GIM poplíteo por debajo, no observamos diferencias significativas en los factores de riesgo cardiovascular, presencia de síndrome metabólico ni control glucémico.

#### **7.4.3 Relación del índice de tejido adiposo epicárdico con el control glucémico, los factores de riesgo cardiovascular, los marcadores de inflamación y las propiedades y composición de las lipoproteínas de alta densidad**

En la Tabla 18 se muestran las correlaciones del iEAT con la edad, HbA<sub>1c</sub>, parámetros de síndrome metabólico, marcadores de inflamación y composición de las HDL. No observamos correlación entre el iEAT y el control glucémico, destacar en cambio la correlación positiva del iEAT con la edad ( $p < 0,001$ ), el IMC ( $p = 0,001$ ), la circunferencia de cintura ( $p < 0,001$ ), la dosis de insulina ( $p = 0,002$ ) y los triglicéridos ( $p = 0,004$ ), así como con la leptina ( $p = 0,004$ ), la PCR ( $p < 0,01$ ), y la masa de apoA-II ( $p < 0,001$ ) y de apoC-III ( $p = 0,008$ ) unida a HDL.

TABLA 18. Correlación de índice de tejido adiposo epicárdico con edad, control glucémico, parámetros de síndrome metabólico, marcadores de inflamación y composición de las lipoproteínas de alta densidad

	N	M ± SD	correlación	p-valor
Edad (años)	72	47,1 ± 8,7	0,430	<0,001
HbA <sub>1c</sub> media (%)	71	7,2 ± 0,8	0,176	0,142
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	72	27,0 ± 4,6	0,399	0,001
Dosis de insulina (ui/kg/día)	71	0,7 ± 0,2	0,355	0,002
Cintura (cm)	72	94,0 ± 13,0	0,559	<0,001
Triglicéridos(mmol/l)*	72	1,0 ± 0,9	0,333	0,004
cHDL (mmol/l)	72	1,5 ± 0,3	-0,040	0,740
Adiponectina (ug/ml)	69	11,4 ± 5,8	-0,290	0,016
Leptina (ng/ml)*	69	1,6 ± 1,5	0,342	0,004
Proteína C reactiva (mg/l)*	69	3,4 ± 6,0	0,421	<0,001
H3 (%)	69	46,9 ± 21,8	0,298	0,013
Masa colesterol libre HDL (%)	69	3,3 ± 0,6	-0,344	0,004
Masa apo AII-HDL (%)	69	9,6 ± 1,5	0,455	<0,001
Masa apo E-HDL (%)	69	0,6 ± 0,3	-0,331	0,005
Masa apo C III- HDL (%)	69	1,7 ± 0,6	0,318	0,008

Se utiliza Correlación de Pearson para las variables que siguen una distribución normal y

Rho de Spearman \*para las variables no paramétricas.

En la Tabla 19 se muestran los resultados de asociación entre el iEAT y resto de factores de riesgo cardiovascular clásicos, síndrome metabólico y complicaciones crónicas (variables cualitativas). Los valores medios del iEAT son superiores en los hombres (46,9 ± 23,8 vs. 30,4 ± 14,9 cc/m<sup>2</sup> superficie corporal), en los pacientes que presentan hipertensión arterial (50,7 ± 24,8 vs. 36,3 ± 19,8 cc/m<sup>2</sup> superficie corporal), dislipemia (47,4 ± 26,4 vs. 34,3 ± 15,5 cc/m<sup>2</sup> superficie corporal), en los fumadores activos o exfumadores (44,4 ± 23,0 vs. 33,4 ± 19,0 cc/m<sup>2</sup> superficie corporal), y en los

que presentan síndrome metabólico ( $51,6 \pm 25,5$  vs.  $35,3 \pm 18,5$  cc/m<sup>2</sup> superficie corporal).

TABLA 19: Índice de tejido adiposo epicárdico (cc/m<sup>2</sup> superficie corporal) según la presencia de factores de riesgo cardiovascular clásicos, síndrome metabólico y complicaciones crónicas

	N	M ± SD	Diferencia de medias	p-valor*
<b>Sexo</b>				
hombre	44	46,9 ± 23,8	16,5 ± 8,9	0,001
mujer	28	30,4 ± 14,9		
<b>Hipertensión</b>				
no	51	36,3 ± 19,8	14,4 ± 5,0	0,011
si	21	50,7 ± 24,8		
<b>Dislipemia</b>				
no	38	34,3 ± 15,5	13,2 ± 10,9	0,014
si	34	47,4 ± 26,4		
<b>Tabaquismo</b>				
nunca	26	33,4 ± 19,0	11,0 ± 4,0	0,043
activo/ex fumador	46	44,4 ± 23,0		
<b>Síndrome Metabólico</b>				
no	49	35,3 ± 18,5	16,3 ± 7,0	0,003
si	23	51,6 ± 25,5		
<b>Complicaciones Crónicas</b>				
no	51	39,2 ± 19,8	4,4 ± 7,7	0,444
si	21	43,6 ± 27,5		

\*Estadístico de contraste: T-test.

Para ver qué variables explicaban de forma independiente el aumento de iEAT se realizó en primer lugar un análisis de independencia de aquellas variables que mostraron significación estadística respecto la variable iEAT de los análisis anteriores. Entre las variables cualitativas se seleccionaron: el sexo, la hipertensión, la dislipemia, el tabaquismo y el síndrome metabólico. Entre las variables cuantitativas se incluyeron

aquellas que presentaban una correlación superior a 0,3 (Tabla 18): edad, IMC, dosis de insulina, perímetro de la cintura, triglicéridos, leptina, PCR, masa de colesterol libre-HDL, masa apoAII-HDL, masa apoE-HDL y masa apoCIII-HDL.

En el Anexo 4 se muestran las correlaciones de Pearson entre las variables explicativas, destacando en negrita aquellas con valores superiores a 0,5. Se han detectado correlaciones entre los pares de variables IMC - Cintura (0,888), IMC - Leptina (0,650), Cintura – masa apoAII-HDL (0,512), masa colesterol libre HDL - Triglicéridos (-0,522), masa apoAII-HDL - masa colesterol libre HDL (-0,691), masa colesterol libre HDL – masa apoCIII-HDL (-0,569).

El Anexo 5 muestra los gráficos de cajas o Box-Plots de las variables cuantitativas con significación estadística respecto iEAT.

El Anexo 6 muestra los resultados del análisis factorial, tanto el gráfico de componentes rotados como la tabla de saturaciones con los pesos de cada variable en su factor. Tanto el gráfico como la tabla indican la relación existente entre hipertensión arterial y síndrome metabólico, ambas muy próximas en el eje 1 con pesos superiores a 0,86.

La Tabla 20 presenta la función de regresión lineal múltiple obtenida para el iEAT. Se muestran los coeficientes estandarizados y no estandarizados de la función, así como el valor del estadístico (t), su significación (p-valor) y el intervalo de confianza (95%) del valor del coeficiente B.

TABLA 20. Función de regresión lineal múltiple para índice de tejido adiposo epicárdico

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	p-valor	IC (95%) para B
	B	Error.Tip.				
Cintura	0,472	0,196	0,278	2,403	0,019	<b>0,079 - 0,864</b>
Edad	0,998	0,254	0,380	3,935	0,000	<b>0,491 - 1,505</b>
Masa apo AII-HDL	5,010	1,698	0,329	2,950	0,004	<b>1,616 - 8,403</b>
Constante	<b>-99,745</b>	<b>18,430</b>		<b>-5,412</b>	<b>0,000</b>	<b>-136,574 - -62,916</b>

Las variables seleccionadas por la función de regresión fueron: edad, cintura y masa apoAII-HDL. A mayor edad, mayor perímetro de cintura o a mayor masa de apo AII ligada a las HDL mayor será el iEAT. La función de Regresión sería:

$$\text{IEAT} = 0,472 (\text{CINTURA}) + 0,998 (\text{EDAD}) + 5,010 (\text{masa apoAII-HDL}) - 99,745$$

Para evaluar el ajuste del modelo de regresión a los datos observados, se utilizaron diferentes estadísticos como los que se presentan en la tabla 20 a. La tabla 20 b muestra el valor de significación de F (distribución de Fisher) La tabla 20 c confirma la inexistencia de colinealidad entre las variables.

TABLA 20 a. Resumen del Modelo

Resumen del modelo			
R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> corregida	Error típ. de la estimación
,692 <sup>a</sup>	,480	,456	16,54589

TABLA 20 b. Análisis de la varianza

ANOVA					
Modelo	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	16396,206	3	5465,402	19,964	0,000
Residual	17794,813	65	273,766		
Total	34191,020	68			

TABLA 20 c. Colinealidad de las variables

	Estadísticos de colinealidad	
	Tolerancia	FIV
(Constante)		
edad en 1º visita estudio	,894	1,118
perímetro cintura cm	,660	1,515
% masa apoAII HDL	,710	1,408

Para finalizar, se realizó un estudio de los residuos cuyo diagnóstico final hecho sobre la bondad de ajuste y el mismo análisis de los residuos, permiten indicar que el modelo es bueno y robusto.

#### 7.4.4 Anexos

**ANEXO 1. Correlaciones de Pearson de las variables cuantitativas (población NO LESIONES)**

		<b>Correlaciones</b>						
		HbA <sub>1c</sub> media	edad	iEAT	GIMccmax	%Lp PLA2-HDL	% masa colesterol HDL	% masa apoAII-HDL
HbA <sub>1c</sub> media	Correlación de Pearson	1	,121	,197	,127	-,253	,007	-,141
	Sig. (bilateral)		,489	,257	,480	,155	,967	,433
	N		35	35	33	33	33	33
Edad	Correlación de Pearson		1	,289	,002	,026	,076	-,201
	Sig. (bilateral)			,088	,991	,884	,668	,253
	N			36	34	34	34	34
iEAT	Correlación de Pearson			1	,033	-,085	-,168	<b>,418*</b>
	Sig. (bilateral)				,852	,634	,343	,014
	N				34	34	34	34
GIMccmax	Correlación de Pearson				1	-,197	-,247	,100
	Sig. (bilateral)					,279	,173	,584
	N					32	32	32
%Lp PLA2-HDL	Correlación de Pearson					1	-,140	,081
	Sig. (bilateral)						,431	,651
	N						34	34
% masa colesterol HDL	Correlación de Pearson						1	<b>-,580**</b>
	Sig. (bilateral)							,000
	N							34
% masa apoAII HDL	Correlación de Pearson							1
	Sig. (bilateral)							
	N							

\* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral). \*\* La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

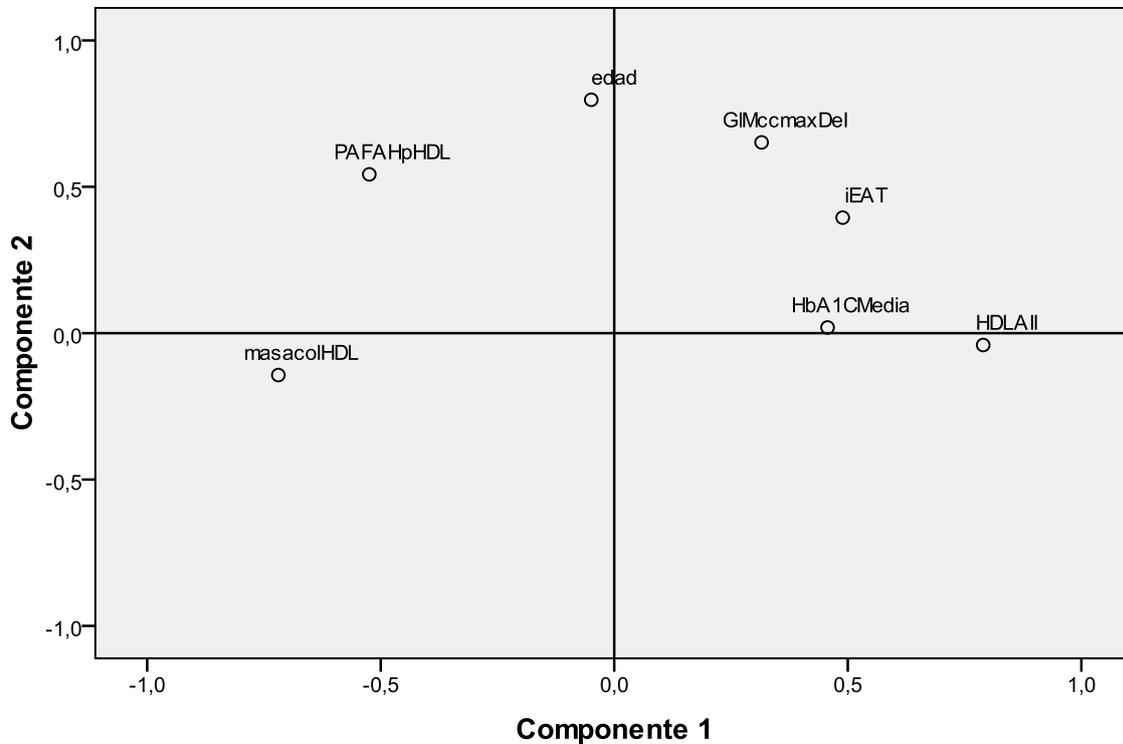
**ANEXO 2. Correlaciones de Pearson de las variables cuantitativas (población SI LESIONES)**

		Correlaciones						
		HbA <sub>1c</sub> media	edad	iEAT	GIMccmaxDeI	%Lp PLA2-HDL	%masa colesterol HDL	%masa apoAIIHDL
HbA <sub>1c</sub> media	Correlación de Pearson	1	,236	,032	,071	-,139	-,177	,290
	Sig. (bilateral)		,167	,852	,700	,424	,309	,091
	N		36	36	32	35	35	35
edad	Correlación de Pearson		1	,336*	,302	,203	,011	-,137
	Sig. (bilateral)			,045	,093	,243	,948	,434
	N			36	32	35	35	35
iEAT	Correlación de Pearson			1	,059	,048	-,293	,381*
	Sig. (bilateral)				,750	,783	,088	,024
	N				32	35	35	35
GIMccmaxDeI	Correlación de Pearson				1	,147	-,352	,223
	Sig. (bilateral)					,430	,052	,229
	N					31	31	31
%Lp PLA2-HDL	Correlación de Pearson					1	,220	-,247
	Sig. (bilateral)						,205	,152
	N						35	35
%masa col HDL	Correlación de Pearson						1	-,375*
	Sig. (bilateral)							,026
	N							35
% masa apoAII HDL	Correlación de Pearson							1
	Sig. (bilateral)							
	N							

\*. La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

### ANEXO 3. Análisis Factorial de las variables según Lesiones/no Lesiones

**Gráfico de componentes en espacio rotado**



**PAFAPhHDL=%Lp PLA2-HDL==%actividad fosfolipasa A2 asociada a HDL;**

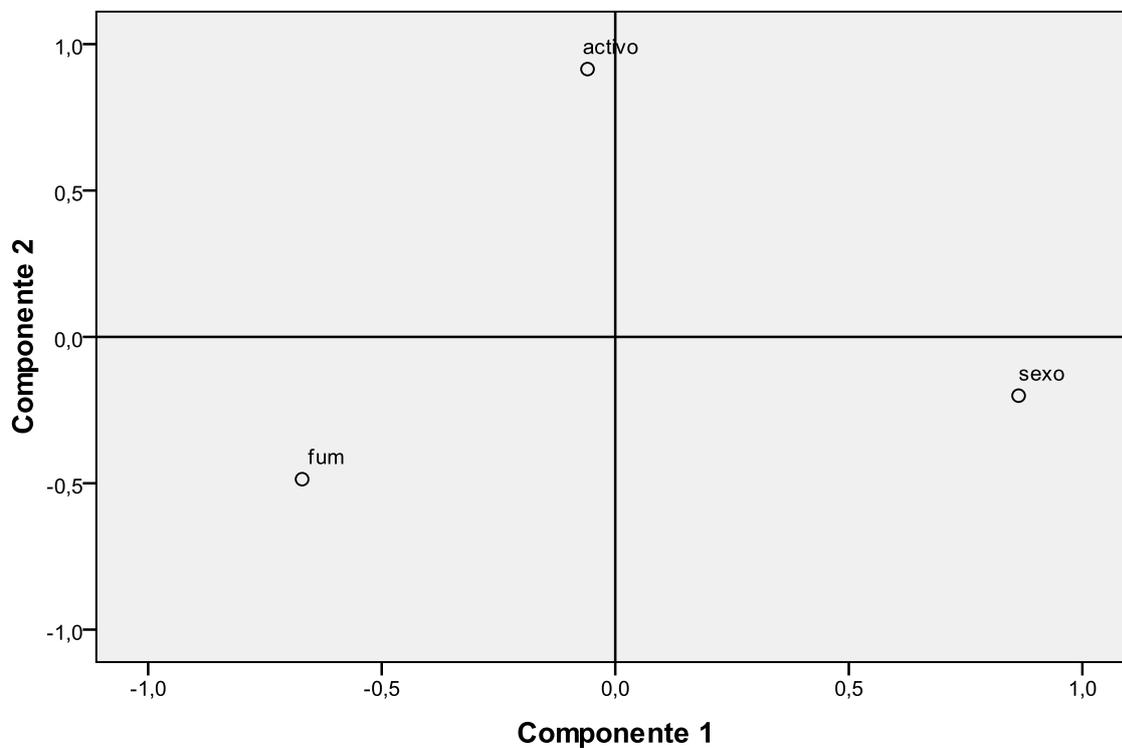
**GIMccmaxDeI=GIM carotideo máximo; HbA<sub>1c</sub> media total de cada paciente= HbA<sub>1c</sub>;**

**masacolHDL=% masa colesterol HDL; HDLAII=% masa apoAII-HDL; Grasa/superficie corporal=iEAT**

<b>Matriz de componentes rotados</b>		
	Componente	
	1	2
HbA <sub>1c</sub>	,457	,019
edad	-,049	<b>,797</b>
iEAT	,489	,395
GIMccmax	,315	<b>,652</b>
%Lp PLA2-HDL	<b>-,524</b>	<b>,543</b>
% masa col HDL	<b>-,719</b>	-,143
% masa apoAII HDL	<b>,790</b>	-,040

Continuación ANEXO 3. Análisis Factorial de las variables según Lesiones/no Lesiones

Gráfico de componentes en espacio rotado



Fum= tabaquismo;

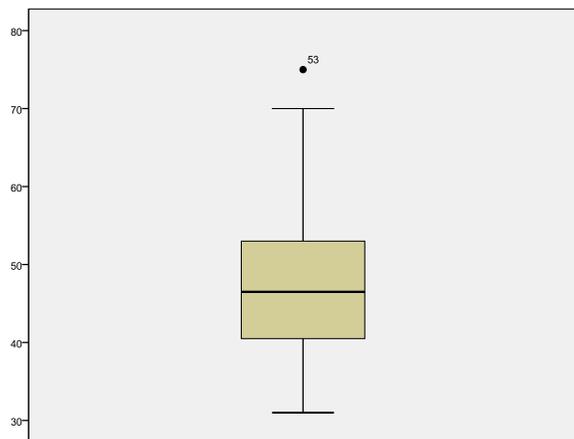
<b>Matriz de componentes rotados</b>		
	Componente	
	1	2
sexo	<b>,863</b>	-,201
activo	-,059	<b>,915</b>
Tabaquismo	<b>-,670</b>	-,486

**ANEXO 4. Correlaciones de Pearson de las variables cuantitativas (para la población con valor de iEAT)**

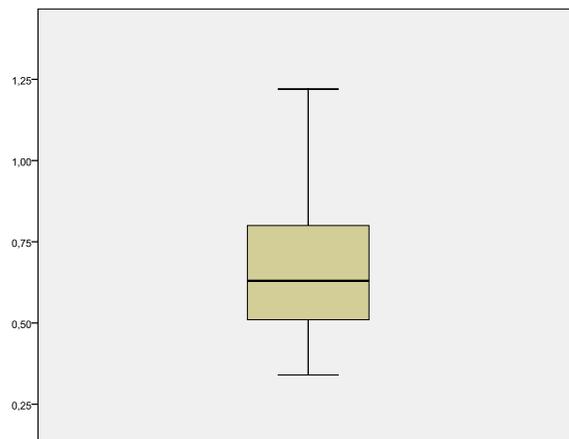
		Correlaciones										
		edad	IMC	dosis	cintura	Triglicéridos	Leptina	PCR	% masa col libre HDL	% masa apoAII HDL	% masa ApoE- HDL	% masa ApoCIII- HDL
edad	Correlación de Pearson	1	,212	,028	,257*	-,010	,310**	-	-,017	-,023	-,108	,070
	Sig. (bilateral)		,074	,819	,030	,931	,009	,494	,888	,850	,376	,569
	N		72	71	72	72	69	69	69	69	69	69
IMC kg/m2	Correlación de Pearson		1	,314**	<b>,888**</b>	,209	<b>,650**</b>	,111	-,309**	,317**	-,234	,273*
	Sig. (bilateral)			,008	,000	,078	,000	,366	,010	,008	,053	,023
	N			71	72	72	69	69	69	69	69	69
dosis de insulina(U/Kg/día)	Correlación de Pearson			1	,369**	,124	-,124	,298*	-,413**	,450**	-,124	,236
	Sig. (bilateral)				,002	,304	,314	,013	,000	,000	,313	,053
	N				71	71	68	68	68	68	68	68
perímetro cintura (cm)	Correlación de Pearson				1	,234*	,469**	,167	-,457**	<b>,512**</b>	-,330**	,386**
	Sig. (bilateral)					,048	,000	,171	,000	,000	,006	,001
	N					72	69	69	69	69	69	69
Triglicéridos (mmol/L)	Correlación de Pearson					1	-,028	,061	<b>-,522**</b>	,294*	-,242*	,417**
	Sig. (bilateral)						,819	,621	,000	,014	,046	,000
	N						69	69	69	69	69	69

Leptina (ng/ml)	Correlación de Pearson	1	,010	,111	-,169	-,052	,054
	Sig. (bilateral)		,938	,362	,164	,669	,662
	N		67	69	69	69	69
PCR	Correlación de Pearson	1	-,339**	,231	-,175	,392**	
	Sig. (bilateral)			,005	,060	,158	,001
	N			67	67	67	67
% masa col libre HDL	Correlación de Pearson			1	-,691**	,315**	-,569**
	Sig. (bilateral)				,000	,008	,000
	N				69	69	69
% masa apoAII HDL	Correlación de Pearson				1	-,417**	,433**
	Sig. (bilateral)					,000	,000
	N					69	69
% masa ApoE-HDL	Correlación de Pearson					1	-,356**
	Sig. (bilateral)						,003
	N						69
% masa ApoCIII-HDL	Correlación de Pearson						1
	Sig. (bilateral)						
	N						
*La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral). ** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).							

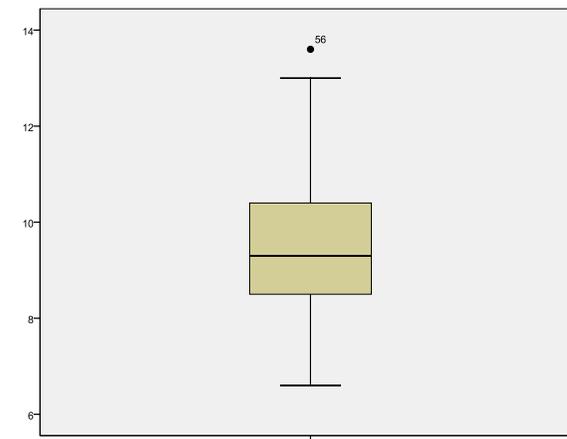
### ANEXO 5. Box-Plot de las variables cuantitativas incluidas en el análisis de Regresión Lineal Múltiple



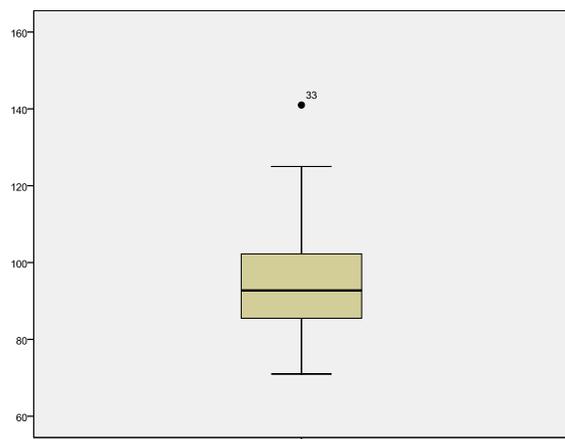
Edad



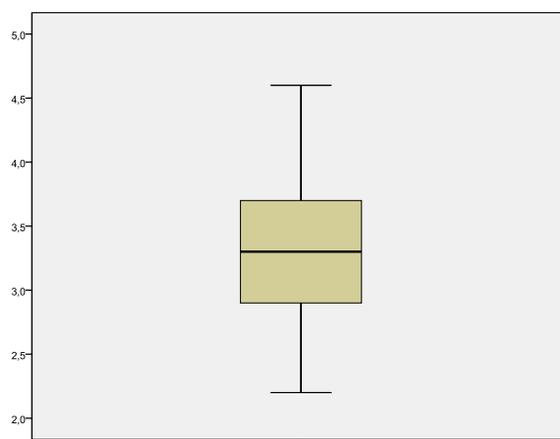
Dosis de insulina



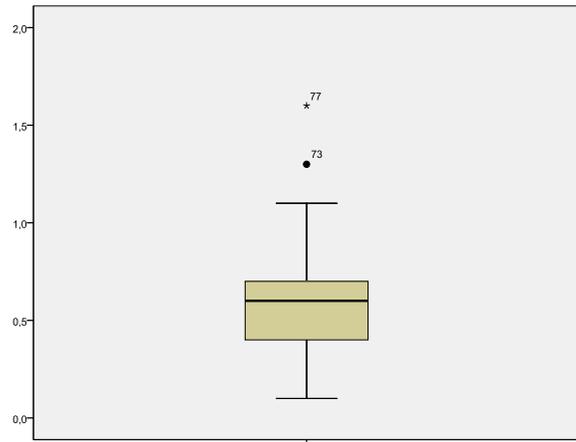
% masa apoAII HDL



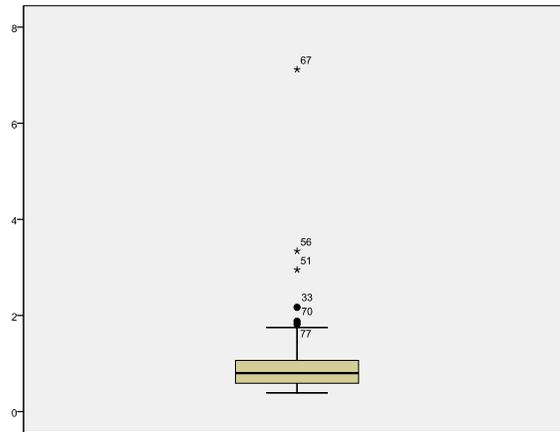
Cintura



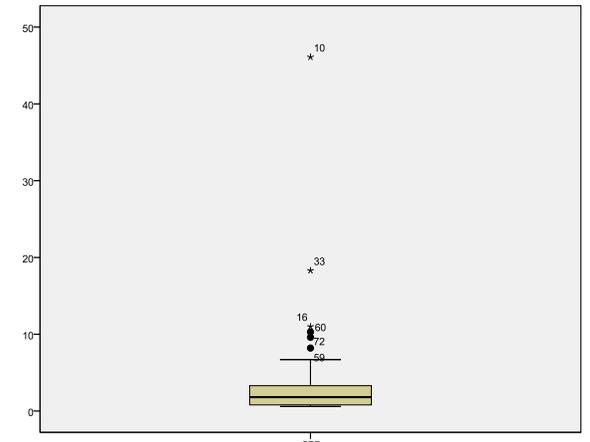
% masa colesterol libre HDL



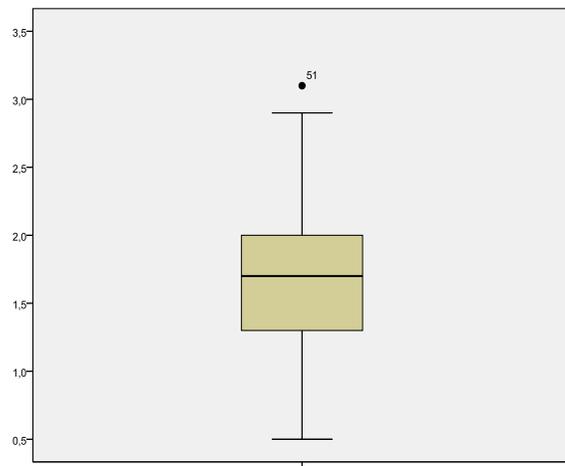
% masa ApoE-HDL



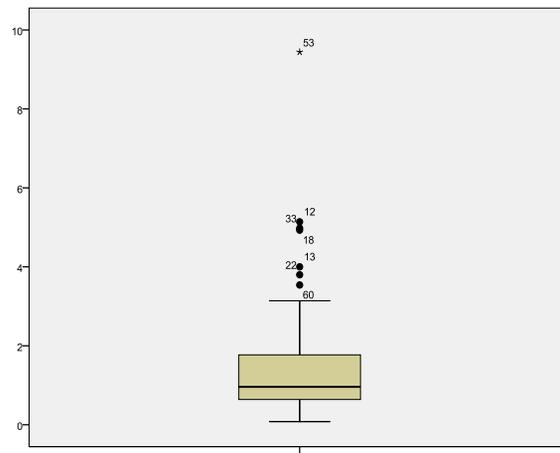
Triglicéridos



PCR



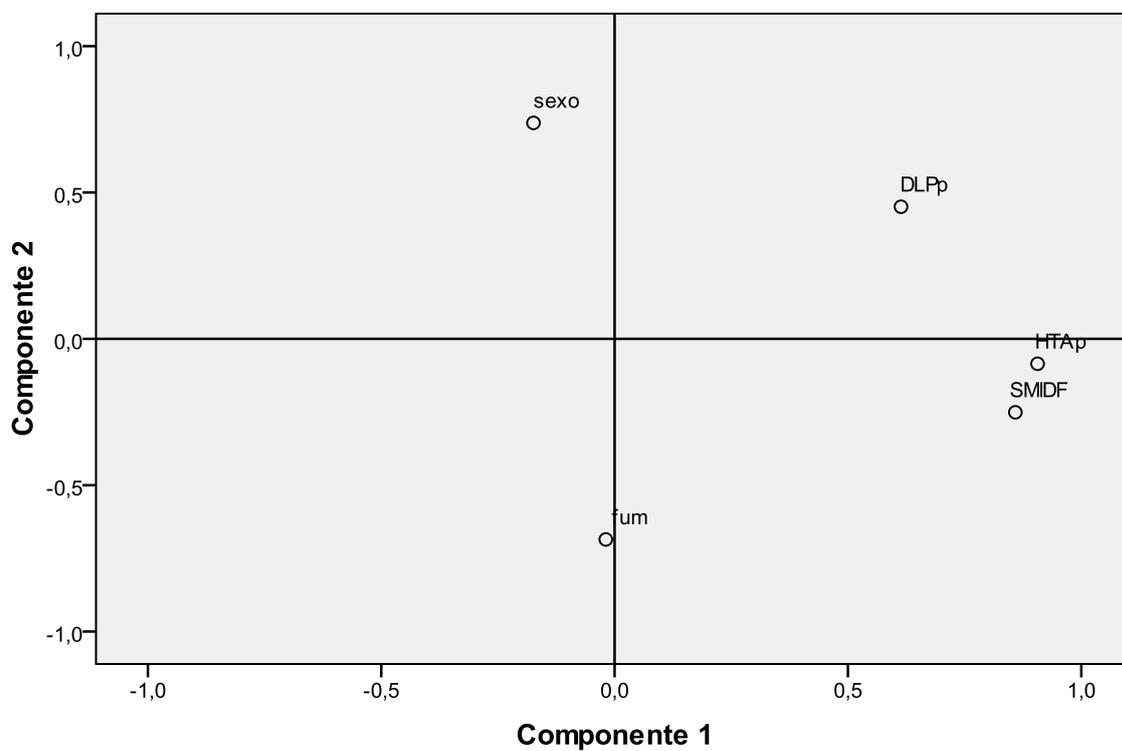
% masa ApoCIII-HDL



Leptina

## ANEXO 6. Análisis Factorial de las variables cualitativas para el análisis de iEAT

Gráfico de componentes en espacio rotado



DLPp= dislipemia; HTAp= hipertensión arterial; SMIDF: Síndrome metabólico;  
Fum=Tabaquismo

<b>Matriz de componentes rotados</b>		
	Componente	
	1	2
sexo	-,174	,738
Hipertensión arterial	<b>,906</b>	-,085
Dislipemia	,614	,451
Tabaquismo	-,019	-,685
Síndrome metabólico	<b>,859</b>	-,251

## **8 DISCUSIÓN**

La enfermedad cardiovascular supone la primera causa de mortalidad en pacientes con DM1 (3)(1) frecuentemente asociada a nefropatía (la microalbuminuria basal es un fuerte factor predictor de enfermedad coronaria en DM1) y a un mal control glucémico. La mejoría del control glucémico disminuye el desarrollo de complicaciones micro y macroangiopáticas como ya se demostró en el estudio “DCCT/EDIC” (69)(119) en el cual se incluyeron pacientes con DM1 en diferentes estadios evolutivos de la enfermedad.

En este contexto el objetivo principal de este trabajo era estudiar la relación del grado de control glucémico, valorado desde el inicio de la diabetes, con la presencia de arteriosclerosis clínica o subclínica en la DM1 de larga evolución, e identificar los potenciales mecanismos implicados en la patogénesis. Respecto a estudios previos, el presente trabajo ofrece información nueva al disponer de datos sobre el control glucémico y otros factores de riesgo cardiovascular desde el inicio de la enfermedad y al evaluar potenciales nuevos marcadores o mecanismos implicados en el desarrollo de la aterosclerosis.

### **8.1 Control glucémico y prevalencia de factores de riesgo cardiovascular**

La muestra estudiada incluye un total de 77 pacientes. Dentro de las características generales destacar que la edad media al diagnóstico era de 25 años, el tiempo de evolución medio de 22 años y que todos los pacientes seguían una pauta de terapia intensiva con múltiples dosis, con una media de 0,66 ui/kg/día de insulina en el momento de la visita del estudio. La evolución de las pautas y preparados de insulina utilizadas es fiel a los avances en la terapia insulínica y las recomendaciones establecidas para esta población con el paso de los años, siendo inicialmente el tratamiento mayoritario de los pacientes de nuestra muestra 3 dosis de insulina regular preprandial y una dosis de insulina NPH nocturna, y

pasando a medida que se comercializan y son financiadas por el sistema público a tratamiento con análogos de insulina y bomba de infusión continua de insulina.

En cuanto al control glucémico, los pacientes incluidos en este estudio y seguidos durante más de 20 años, presentan globalmente durante el seguimiento un buen control glucémico. La HbA<sub>1c</sub> media de las determinaciones anuales durante todo el periodo de seguimiento fue de  $7,2 \pm 0,7\%$ . El 32,9% de los pacientes mantuvieron una HbA<sub>1c</sub> media  $\leq 7\%$  desde las primeras fases de la enfermedad y el 59,2% una HbA<sub>1c</sub> media  $\leq 7,5\%$ . Como era de esperar, el valor de la HbA<sub>1c</sub> aumentó con la mayor duración de la diabetes, observándose un primer incremento a partir de los 5 - 6 años de evolución (la HbA<sub>1c</sub> media de los primeros 5 años fue de  $6,37 \pm 1,15\%$ , lo que refleja probablemente la persistencia de una cierta reserva pancreática residual) y un segundo incremento a partir de los 11 - 12 años, manteniéndose después estable entre 7,5 y 7,9%. Teniendo en cuenta los objetivos de control glucémico recomendados por la “ADA” (120) según edad (objetivo para pacientes menores de 18 años HbA<sub>1c</sub>  $< 7,5\%$ , y para mayores de 18 años HbA<sub>1c</sub>  $< 7\%$ ), también podemos decir que durante los 5 primeros años de seguimiento estarían en objetivos más del 70% de pacientes de nuestra muestra, más del 45% en los 5 años siguientes y alrededor de un 25% a partir de los 10 años de evolución. Estos resultados son claramente superiores a los recogidos por el Grupo de Investigación del “DCCT/EDIC” y publicados en el 2009 gracias a más de 350 colaboradores (14) en donde se analizaron los pacientes pertenecientes por un lado a ambas cohortes (terapia convencional/terapia intensiva) del estudio “DCCT/EDIC” (n=1441) (121)(122), y por otro a un subgrupo de pacientes con DM1 del “Pittsburgh (EDC) Study” (n=161) que cumplían los criterios de inclusión del estudio “DCCT” (123)(124). La proporción de pacientes del “DCCT/EDIC” asignados inicialmente a terapia convencional que presentaron HbA<sub>1c</sub>  $\leq 7\%$  durante el seguimiento fue del 13,1%, la de los pacientes asignados inicialmente a terapia intensiva fue del 18,8%, y la del grupo de

pacientes analizados del “EDC” del 16,8%, en todos los casos inferiores a la observada en nuestro estudio. También son superiores nuestros resultados comparados con los datos observados en la cohorte de pacientes seguidos desde el debut en el “WDRS” (125) donde se evaluaron 590 pacientes (de los cuales completaron el estudio 442) diagnosticados entre 1987 y 1992, con edad al diagnóstico menor de 30 años (media de 11,4 años); durante el primer año sólo el 14% seguía tratamiento con 3 o más dosis de insulina, porcentaje que alcanzó el 96% al finalizar el estudio. En el corte realizado a los 18 - 20 de duración (n = 112) únicamente el 22% de los pacientes presentaron una HbA<sub>1c</sub> < 7%. A nivel europeo destacamos los datos del registro nacional sueco publicados en el 2007, la media de pacientes con DM1 que presentaban una HbA<sub>1c</sub> < 7% con una media de 23 años de duración de la diabetes era 17,4% y en un segundo corte con una media de evolución de 26 años era de 21,1% (126). Por último en un estudio realizado en España para evaluar el grado de control glucémico en pacientes con DM1 en Castilla la Mancha (“DIACAM”) (127) la HbA<sub>1c</sub> media a los 19,4 años de evolución era de 7,8% presentando un 26% una HbA<sub>1c</sub> <7%.

En cuanto los factores de riesgo cardiovascular, el 46,8% de los pacientes de nuestra muestra presentaba dislipemia, aunque sólo un 43% seguía tratamiento con estatinas, mayor porcentaje que el recogido en el “DCCT/EDIC” y el “EDC” (14) que fue 36%/ 38% y 32% respectivamente, aunque hay que tener en cuenta que sólo están reflejados aquellos que tomaban estatinas. En el informe del registro sueco publicado en el 2013, vemos que en los años 2012 y 2013 (128) (momento en que realizamos nuestro corte transversal) el 44,4% y 44,6% de sus pacientes con DM1 recibían tratamiento hipolipemiante, presentando el 57,9% y el 61,9% respectivamente un colesterol LDL < 2,5 mmol/l. Hay que destacar que a lo largo de la evolución un 32,5% de los pacientes de nuestro estudio presentaron un colesterol LDL siempre por debajo de 2,6 mmol/l (100 mg/dl), un 92,2% de pacientes mantuvieron los niveles de triglicéridos siempre inferiores a 1,7 mmol/l (150 mg/dl) y un 80% de hombres y

el 100% de las mujeres el colesterol HDL en objetivos ( $> 1,05$  mmol/l (40 mg/dl) ♂ y  $> 1,3$  mmol/l (50 mg/dl) ♀).

Un 29% de nuestros pacientes tenía hipertensión y un 31% seguía tratamiento antihipertensivo. En el estudio “EURODIAB IDDM” (99) un 24% de pacientes con DM1 presentaron hipertensión arterial ( $TA \geq 140/90$  mmHg o recibían tratamiento hipotensor), eran pacientes más jóvenes (edad media de 32,7 años) y con menor tiempo de evolución de la diabetes (14,7 años) que los incluidos en nuestro estudio. En el “DCCT/EDIC” y el “EDC” (14) sólo están reflejados aquellos que tomaban inhibidores del enzima de conversión de la angiotensina (45%/ 42% y 42% respectivamente) o betabloqueantes (7%/ 5% y 4% respectivamente). En el registro sueco (128) la proporción de pacientes con DM1 con tratamiento hipotensor en el periodo 2009 - 2013 fue de 44,4%, mayor al nuestro y similar a los comentados previamente.

Hay que destacar el elevado número de fumadores (35,1 %), siendo esta prevalencia similar a la de la población general española (129) y a la de un estudio realizado en una población española de pacientes con DM1 con edad media de 38 años (37,8%) (130). Esta proporción de fumadores es claramente superior a la de otras cohortes de DM1, concretamente a la proporción de fumadores encontrada en el estudio “DCCT/EDIC” a los 12 años del “EDIC” (12% en terapia convencional/ 15% en terapia intensiva) (14), a la encontrada en los pacientes del el estudio de Pittsburg ya a los 25 años de evolución (33% de fumadores) (131), o en los del “EURODIAB” en el estudio publicado en el 2008 (31%) (132). También es claramente superior a la descrita en el informe de 2009 - 2013 del registro sueco donde con un tiempo medio de evolución de la diabetes de 24 años eran fumadores alrededor de un 12% de pacientes (128). Una posible justificación puede estar relacionada con el contexto social y la evolución de las políticas antitabaco en nuestro país, que fueron más tardías que en los países donde se realizaron los otros estudios. Consideramos, sin

embargo, que es mayor a la esperada tratándose de pacientes con alto riesgo cardiovascular y que reciben consejo para el abandono del hábito tabáquico a lo largo del seguimiento.

La prevalencia de obesidad es de un 20,8% en el momento del estudio. Durante el seguimiento el IMC medio se mantuvo por debajo de 25 kg/m<sup>2</sup> los primeros años de evolución pero aumentó posteriormente. La prevalencia de obesidad es similar a la de la población española de la misma edad e inferior a la observada en los estudio “DCCT/EDIC” donde era 28% en el grupo de terapia convencional y 31% en el de terapia intensiva, y en el “EDC” donde afectaba al 27% (14). En cambio la proporción observada en nuestro estudio es superior a la obtenida en el registro realizado en Suecia en la población de pacientes con DM1 con un tiempo de evolución de 24 años, que fue alrededor de 14% (128). Todos estos datos sugieren el importante papel de los factores comunes a los de la población general, aunque la terapia intensiva se asocia a mayor ganancia de peso (133). Es de destacar que el 22% de los pacientes eran sedentarios, dato que coincide con los obtenidos en otras cohortes de pacientes con DM1, sobre todo en mujeres (134). Estas bajas tasas sorprenden teniendo en cuenta los efectos favorables del ejercicio físico sobre la tensión arterial, el perfil lipídico, los marcadores de inflamación y el riesgo cardiovascular, entre otros. Además de la falta de promoción de programas de ejercicio, la necesidad de realizar ajustes de la ingesta y/o la dosis de insulina para evitar la hipoglucemia/hiperglucemia, también puede contribuir a la no realización de ejercicio físico.

La proporción de pacientes con síndrome metabólico en nuestra muestra es de 32,5%, similar al de la población con DM1 en Europa (39%) (135) y prácticamente idéntica a la obtenida en otro estudio en Cataluña (31,9%) (136). Este es un dato relevante ya que la presencia de síndrome metabólico se asocia a aumento de complicaciones microvasculares (135) y macrovasculares (137) en pacientes con DM1 y DM2. Tal como comentaremos más adelante, en nuestro estudio existe una clara asociación entre síndrome metabólico y

aumento de tejido adiposo epicárdico, que también se asocia a mayor riesgo cardiovascular y con el desarrollo de complicaciones macrovasculares.

## **8.2 Prevalencia de complicaciones micro y macrovasculares**

La prevalencia de complicaciones observada en nuestra cohorte tras una media de 22,5 años de evolución fue 20,8% de retinopatía, 10,4% de nefropatía, 15,6% de neuropatía y 3,9% de macroangiopatía. La podemos comparar de nuevo con la obtenida en el estudio realizado por el Grupo de Investigación del “DCCT /EDIC” (14) cuyo objetivo principal fue determinar la prevalencia de complicaciones crónicas en pacientes con DM1 de larga evolución. La prevalencia de complicaciones a los 18,5 años de seguimiento en la cohorte del grupo de tratamiento intensivo desde el inicio en el “DCCT/EDIC” (retinopatía 21%, nefropatía 9% y enfermedad cardiovascular 9%) resultó ser muy inferior a la del grupo que fue tratado con terapia convencional desde el inicio (retinopatía 50%, nefropatía 25% y enfermedad cardiovascular 14%) y a la del subgrupo de pacientes del “EDC” (retinopatía 47%, nefropatía 17% y enfermedad cardiovascular 14%). La prevalencia de complicaciones observada en nuestra cohorte en cuanto a retinopatía y nefropatía parece similar a la observada en el grupo de tratamiento intensivo del “DCCT/EDIC”, pero podemos decir que es mejor si tenemos en cuenta el estadio o grado de las complicaciones. En el estudio “DCCT/EDIC” y en el subgrupo del “EDC”, se hace referencia a retinopatía con repercusión clínica (retinopatía proliferativa, edema macular, fotocoagulación o ceguera) y a la nefropatía con macroalbuminuria o nefropatía avanzada, mientras que en nuestro trabajo se refleja cualquier grado de retinopatía y nefropatía. Únicamente un paciente presentó retinopatía proliferativa y todos los pacientes con nefropatía diabética presentaban una fase de nefropatía incipiente. En nuestra cohorte la prevalencia de enfermedad cardiovascular fue del 3,9% mientras que en el grupo intensivo del “DCCT/EDIC” fue del 9%. Por tanto, la

prevalencia de complicaciones y especialmente la gravedad de las mismas fueron claramente inferiores en nuestra cohorte.

Nuestra prevalencia también es inferior respecto a la reflejada en el estudio “WDRS” también mencionado previamente (125). La prevalencia de retinopatía diabética en esta cohorte a los 20 años de seguimiento fue del 86% (48% leve, 31% moderada–severa y 8% proliferativa) y un 40% de pacientes seguían tratamiento por la albuminuria. El registro poblacional sueco (128) por otro lado describe en el periodo de 2009 - 2013 una prevalencia de microalbuminuria del 9,3% en los pacientes con 15-24 años de evolución similar a la nuestra pero con una prevalencia añadida de 3,9% de nefropatía establecida y una prevalencia de macroangiopatía de 5,1% en el 2007, tras una evolución media de 20 años (126). En un estudio más cercano al nuestro, realizado por una unidad de oftalmología en Reus (138) donde se siguió durante 20 años a un grupo de 110 pacientes reclutados en 1990 y con un promedio de HbA<sub>1c</sub> durante el tiempo de seguimiento de 7,82%, se objetivó una incidencia de retinopatía del 70,91%, de nefropatía incipiente de 42,72% y de nefropatía establecida de 23,6%. Sin embargo, existe la posibilidad de sesgo al tratarse de un centro de referencia de oftalmología y por tanto que se derivaran los pacientes con mayor riesgo de presentar retinopatía.

El tiempo de evolución de la diabetes y el grado de control de la hiperglucemia y de los factores de riesgo cardiovascular son los principales factores relacionados con el desarrollo de las complicaciones tardías y las diferencias entre los diferentes estudios deberían explicar las diferencias en la prevalencia de las complicaciones. El control glucémico en nuestra cohorte se relacionó, como era de esperar, con el desarrollo de complicaciones tardías micro y macroangiopáticas. Los pacientes sin complicaciones tardías, comparados con los que desarrollaron complicaciones, presentaron mejor control glucémico en los primeros 5 años (HbA<sub>1c</sub>:  $6,1 \pm 0,9$  vs.  $7,0 \pm 1,4\%$ ;  $p = 0,001$ ) así como a lo

largo de todo el seguimiento posterior ( $HbA_{1c}$ :  $7,0 \pm 0,7$  vs.  $7,6 \pm 0,9\%$ ;  $p = 0,003$ ). Recalcar por otro lado la relevancia del control en las fases iniciales de la enfermedad. En este sentido, nuestros datos reflejan la importancia de tener en cuenta la  $HbA_{1c}$  desde el inicio del seguimiento en la predicción de la evolución y que los valores de  $HbA_{1c}$  en diferentes momentos no parecen tener la misma importancia para el desarrollo de las complicaciones. Nuestros datos muestran que un alto porcentaje de pacientes se mantuvieron dentro de objetivos durante los 5 primeros años de la enfermedad y que los pacientes que no desarrollaron complicaciones presentaron mejor control glucémico en los primeros 5 años. Este dato está de acuerdo con la teoría de la memoria metabólica (66)(67) y probablemente está en relación con la baja tasa de complicaciones crónicas observada en nuestro estudio. Estos resultados obtenidos en la práctica clínica enfatizan la importancia del seguimiento de la DM1 desde el diagnóstico por personal experto y que facilite la incorporación de los avances en la terapia. Por otro lado, al comparar los distintos estudios, la duración de la diabetes de los pacientes incluidos en nuestro estudio ( $22,4 \pm 2,2$  años) era algo inferior a la de los incluidos en el “DCCT/EDIC” ( $25 \pm 5$  años en el grupo de terapia intensiva,  $24 \pm 5$  años en el grupo de terapia convencional) y en el “EDC” ( $30 \pm 2$  años). Por el contrario, en el estudio “WDRS” y el estudio realizado en Reus, los pacientes incluidos eran más jóvenes y la duración de la diabetes inferior (20 años), mientras que en el registro sueco los datos corresponden a los pacientes con una evolución entre 15-24 años. Estas diferencias en el tiempo de evolución de la diabetes no parecen justificar las diferencias en la prevalencia de las complicaciones. Aunque resulta más difícil de comparar por la no homogeneidad en las diferentes definiciones aplicadas y el grado de control de los mismos, tampoco las diferencias en los factores de riesgo cardiovascular parecen tener un efecto relevante en la justificación de las diferencias en la prevalencia de las complicaciones clínicas.

### **8.3 Prevalencia de aterosclerosis subclínica**

Los datos disponibles sugieren que la aterosclerosis preclínica es más frecuente y extensa en los pacientes con DM1, ya desde edad temprana. Por tratarse de una enfermedad diagnosticada en etapas precoces de la vida, la evaluación mediante técnicas no invasivas de la aterosclerosis precoz en fases preclínicas, podría tener especial interés en la DM1 para predecir el desarrollo de futuros eventos cardiovasculares y desarrollar estrategias de prevención. Sin embargo, los métodos más adecuados, las indicaciones y el enfoque terapéutico, están por definir.

#### **8.3.1 Prevalencia de aterosclerosis subclínica a nivel coronario**

Los pacientes con DM1 presentan mayor riesgo cardiovascular que la población general (12) y se ha descrito además, que la probabilidad de presentar lesiones asintomáticas no calcificadas en DM1 es incluso mayor que en pacientes con DM2. El índice de calcificación coronaria o score cálcico (CAC) tiene limitaciones a la hora de explorar la presencia de enfermedad arterial coronaria ya que no detecta enfermedad obstructiva producida por placas no calcificadas. La TCMD permite detectar lesiones que pasan inadvertidas con el CAC. Así, en un estudio realizado en pacientes con DM1 y con DM2 por Madaj y col. (139) mostró que un CAC = 0 no excluía la presencia de lesión sobre todo en los pacientes con DM1. En el estudio realizado por Leem y col. (140) en pacientes con DM2 detectaron la existencia de lesiones obstructivas en el 11% de aquellos presentaron CAC = 0.

Hay estudios que confirman que los pacientes con diabetes presentan mayor grado de aterosclerosis precoz medida por TCMD frente a controles sanos (141)(142). En un estudio realizado en 23.643 pacientes de 12 centros de 6 países de Norteamérica, Europa y Asia (43), se determinó la prevalencia de enfermedad coronaria asintomática, evaluada mediante TC helicoidal y definiendo como enfermedad coronaria obstructiva una estenosis mayor o

igual al 50%. Al comparar pacientes diabéticos con no diabéticos se observó que los diabéticos presentaban mayor índice de lesiones obstructivas: 37% frente a 27%. En otro estudio (143) realizado en 65 pacientes con DM1 y 70 con DM2 asintomáticos y con características basales similares en cuanto a edad y sexo y factores de riesgo cardiovascular salvo el IMC y HbA<sub>1c</sub>, la prevalencia de aterosclerosis obstructiva valorada por TCMD fue mayor en los pacientes con DM2 (34%) frente a DM 1 (17%). En el presente estudio, acorde con la baja prevalencia de enfermedad cardiovascular clínica, sólo dos pacientes tenían aterosclerosis subclínica coronaria significativa (estenosis luminal en arterias coronarias mayor o igual a 50% (143)(43)), pero el 47% presentaban estenosis coronaria menor al 50% y el 5,5% estenosis entre el 40 y 50%. En el estudio CONFIRM (43), con mayor número de pacientes y la mayoría con DM2, la incidencia de lesiones obstructivas (> 50%) era del 37%, y el 35% presentaban algún grado de aterosclerosis, lo que probablemente refleja un proceso aterosclerótico más avanzado acorde con las características de los pacientes. Los estudios de prevalencia de lesiones identificadas por TCMD realizados y publicados únicamente en pacientes DM1 son escasos, el número de pacientes incluidos es pequeño y con características no comparables a las de nuestra población. Por ejemplo, el estudio de De Oliveira (144) realizado en pacientes con DM1 en hemodiálisis, que mostró que el 75% presentaban estenosis mayor de 30%, y el 55% mayor de 50%. Esta elevada prevalencia de lesiones se justifica por la conocida relevancia de la nefropatía diabética en el desarrollo de la aterosclerosis en los pacientes con DM1; en nuestro estudio todos los pacientes presentaba la función renal conservada y sólo un 11% microalbuminuria.

### **8.3.2 Prevalencia de aterosclerosis subclínica a nivel carotídeo, femoral y poplíteo**

El incremento del GIM carotídeo es un factor de riesgo independiente de la incidencia de enfermedad cardíaca coronaria y accidente vascular cerebral. Varios estudios lo han demostrado, al objetivar que un GIM carotídeo aumentado y/o la detección de placas, incrementaban el riesgo relativo de complicaciones clínicas de la aterosclerosis hasta 5 veces más allá del valor predictivo de los factores de riesgo tradicionales (20)(24)(26)(118). El GIM femoral también se ha asociado con los factores de riesgo tradicionales y con la existencia de enfermedad coronaria (33)(34).

El porcentaje de aterosclerosis asintomática a nivel carotídeo y femoral en nuestra muestra fue algo superior que el detectado a nivel coronario. Sin embargo, los valores medios y máximos de GIM carotídeo tanto en los hombres como en las mujeres de nuestra muestra son inferiores a los obtenidos por Giménez y col. (145) en un centro de características similares al nuestro, en sujetos con DM1 con tiempo de evolución media de 15 años y con una HbA<sub>1c</sub> media de 6,7% en el momento del estudio; no obstante, no disponemos de los datos de control glucémico en los primeros años de esa muestra, los cuales podrían haber determinado el aumento del GIM como se objetivó en la cohorte del DCCT/EDIC (146).

En nuestra muestra hemos considerado la presencia de aterosclerosis precoz en caso de un GIM por encima del P75 de una cohorte de referencia estudiada en Barcelona (118) (33). Un 10% y un 24% de nuestros pacientes presentaron un GIM carotídeo y femoral, respectivamente, por encima del P75 de dicha población de referencia. Estos valores se ha demostrado que se asocian a un incremento del riesgo cardiovascular (147)(148)(149); en nuestro conocimiento no existen datos publicados en otras poblaciones con DM1.

Globalmente podemos decir que un 33,8% de pacientes presentaron signos de aterosclerosis clínica o subclínica (macroangiopatía, grosor de íntima media carotídeo o femoral por encima del P75 de la población de referencia, o lesiones significativas en la TCMD). Este porcentaje asciende a 67,5% si tenemos en cuenta a todos los pacientes que presentaron algún tipo de lesión aunque no fuese significativa en la TCMD, aunque el significado clínico de estas lesiones estaría por determinar.

#### **8.4 Factores asociados a aterosclerosis subclínica**

En los siguientes apartados evaluamos la relación del control glucémico, de los diferentes factores de riesgo cardiovascular, síndrome metabólico, marcadores de inflamación y composición de las HDL estudiados, con la arteriosclerosis subclínica detectada por TCMD (aterosclerosis coronaria) y por ecografía (aterosclerosis carotídea, femoral y poplítea).

##### **8.4.1 Factores asociados a aterosclerosis subclínica coronaria**

Como era de esperar, los pacientes con lesiones en la TCMD presentan peor control glucémico y un patrón de factores y/o marcadores de riesgo cardiovascular menos favorable.

La media del control glucémico a lo largo de la evolución es mayor en aquellos pacientes con lesiones ( $HbA_{1c}$ :  $7,4 \pm 0,8\%$  vs.  $7 \pm 0,7\%$ ;  $p = 0,047$ ), y por tanto es un factor a considerar en el desarrollo de aterosclerosis precoz. Ello confirma los hallazgos de estudios que demuestran la asociación existente en pacientes con DM1 entre el control glucémico a largo plazo y la presencia de aterosclerosis precoz (59). El análisis comparativo también confirma la asociación de factores de riesgo cardiovascular clásicos como la edad, el sedentarismo y el tabaquismo con la presencia de lesiones. La edad ya se asocia a la presencia de aterosclerosis evaluada por TC coronario en otros estudios (150). El

sedentarismo es un factor asociado al aumento de peso y a mayor riesgo cardiovascular. Varios estudios ya han demostrado que la actividad física reducida se asocia a aterosclerosis precoz (40) así como que el aumento de actividad física ya desde la infancia en pacientes con DM1 se asocia a menor riesgo cardiovascular (reducción de niveles de colesterol, tensión arterial y mejoría de control glucémico) (151). Por otro lado el tabaquismo también se asocia en nuestra muestra de forma significativa a la presencia de lesiones, dato coherente con otros estudios donde se asocia a la presencia de enfermedad coronaria obstructiva producida por placas no calcificadas en pacientes con CAC = 0 (140).

La ausencia de diferencias significativas en cuanto a la presencia de otras complicaciones crónicas entre los pacientes que presentaron lesiones y los que no, puede ser debido a que se trata de una muestra de pacientes con DM1 con una prevalencia de complicaciones muy baja (152).

La presencia de aterosclerosis subclínica en otros territorios también se asocia con mayor riesgo coronario. En el estudio realizado por Kafetzakis y col. (153) el GIM carotídeo y también el GIM femoral y poplíteo mostraban correlación con la presencia de enfermedad arterial coronaria obstructiva (estenosis > 50%), aunque sólo el GIM carotídeo y femoral fueron factores predictores independientes con una especificidad de 74% y 60%, respectivamente, y una sensibilidad de 76% y 70%, respectivamente. Otros estudios (154) también han mostrado que el GIM femoral es predictor importante de la severidad y extensión de aterosclerosis coronaria. En relación al GIM poplíteo hay pocos estudios en cuanto a su asociación con la enfermedad coronaria (155). En el estudio ARIC (36) se objetivó que tanto el GIM carotídeo como poplíteo se relacionaban con la enfermedad cardiovascular clínicamente manifiesta. En nuestro estudio encontramos una relación significativa entre el GIM carotídeo máximo y la presencia de lesiones coronarias, pero no observamos relación entre el GIM carotídeo medio, femoral o poplíteo con la presencia de

lesiones coronarias en la TCMD. Ello podría justificarse probablemente por el diferente patrón de factores de riesgo en diferentes territorios vasculares, aunque la muestra reducida y la baja prevalencia de lesiones también pueden contribuir a la ausencia de relación entre la presencia de lesiones coronarias y en otros territorios vasculares.

El volumen de grasa epicárdica medido por TC se ha relacionado con presencia de aterosclerosis (156), y con mayor riesgo de enfermedad coronaria asintomática. Nuestros datos muestran que los pacientes con lesiones coronarias presentaron mayor iEAT, lo que confirma los hallazgos de estudios previos en población general, como el llevado a cabo en el Hospital St Paul's en Korea (157). En este estudio se comparó el volumen de tejido adiposo epicárdico en individuos que presentaban estenosis > 20% frente a individuos normales, detectando que a pesar de no existir diferencias significativas entre el IMC y el perímetro de cintura entre los dos grupos, el tejido adiposo epicárdico era mayor en el grupo que presentaba aterosclerosis coronaria frente al que no. Estos hallazgos enfatizan que la medida del tejido adiposo epicárdico aporta más información que la simple medida del peso, IMC y cintura. Otros estudios a destacar son el realizado por Oka y col. en 357 pacientes (158) donde se objetivó que los pacientes que tenían mayor cantidad de tejido adiposo epicárdico presentaban más placas no calcificadas (74% vs. 59%,  $p = 0,003$ ), y el realizado por Sarin y col. (159), quienes observaron que los pacientes con volumen de tejido adiposo epicárdico elevado medido por TCMD presentaban mayor porcentaje de enfermedad coronaria (46% vs. 31%;  $p < 0,05$ ) y síndrome metabólico (44% vs. 29%;  $p < 0,05$ ). También existen evidencias en pacientes con DM2 de que el aumento de grasa epicárdica se asocia a mayor riesgo de aterosclerosis coronaria (160). En los pacientes con DM1 la información es muy escasa e indirecta ya que la asociación únicamente se ha demostrado con los parámetros de síndrome metabólico (90) pero no con la presencia de lesiones arterioscleróticas.

En cuanto al perfil lipídico no hubo diferencias significativas en los niveles de colesterol LDL, triglicéridos y colesterol HDL entre los pacientes con lesiones y sin lesiones; sin embargo, sí hubo diferencias en cuanto a la composición de las HDL. Los pacientes con lesiones presentan HDL más pequeñas, pobres en colesterol y ricas en apoA-II, características que se han asociado con menor capacidad antiaterogénica. Los niveles bajos de colesterol HDL se han asociado al mayor riesgo de aterosclerosis, pero cada vez existe mayor evidencia sobre la relevancia de la funcionalidad de las HDL en su capacidad antiaterogénica. Las partículas de colesterol HDL participan en el transporte reverso de colesterol y tienen capacidad antioxidante y antiinflamatoria además de poder inhibir procesos como la apoptosis o la trombosis. Las HDL neutralizan los efectos proaterogénicos de la oxidación de las partículas de colesterol LDL y los lipoperóxidos generados por la oxidación de las LDL son transferidos por la proteína transferidora de esteroides de colesterol a las HDL y detoxificados mediante la apoA-I y la enzima PON. La capacidad de realizar estas funciones depende de su composición en apolipoproteínas y enzimas (161) y la diabetes es una de las situaciones asociadas con partículas HDL disfuncionales (162). Varios componentes de las HDL se han asociado a mayor riesgo cardiovascular como el aumento de apoA-II y menor presencia de apoA-I (con características antitrombóticas) o el aumento de apoC-III. La apoA-II se ha implicado en el aclaramiento de las lipoproteínas ricas en triglicéridos y se ha asociado con los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres, glucosa e insulina (163). Parece promover la acumulación de grasa visceral y afectar el metabolismo de las VLDL grandes (164). A la apoA-II también se le ha atribuido propiedades proaterogénicas dado que las HDL ricas en apoA-I y pobres en apoA-II parecen ser ateroprotectoras (165).

Un hallazgo inesperado en nuestro estudio es que los pacientes con lesiones presentan mayor actividad de Lp PLA2 ligada a HDL, mientras que la actividad de la

enzima total (LpPLA2 total) no muestra diferencias significativas. Resulta paradójico ya que la LpPLA2 total y la ligada a LDL sí se han asociado a mayor riesgo cardiovascular (oclusión coronaria y eventos cardiovasculares), pero a la ligada a la HDL se le ha atribuido un efecto antiaterogénico. La Lp PLA2, también llamada PAF AH (platelet activating factor acetyl-hydrolase) ha sido descrita como partícula inflamatoria implicada en la aterosclerosis (166). Se ha detectado RNAm y proteínas de Lp PLA2 en lesiones ateroscleróticas y la Lp PLA2 se expresa de forma importante en el núcleo necrótico y macrófagos apoptóticos de las placas coronarias especialmente en las vulnerables y rotas, lo que sugiere un papel en el proceso inflamatorio aterosclerótico (167). Se ha reportado que puede contribuir a la aterogénesis al promover el proceso inflamatorio y oxidativo en la íntima y que se asocia fundamentalmente a factores lipídicos (168). La Lp PLA2 se une a las LDL y a las HDL (también se encuentra unida a otras lipoproteínas: lipoproteína (a) y VLDL). Parece que el rol de la Lp PLA 2 depende de la partícula a la cual esté asociada. La Lp PLA 2 asociada a LDL se le han atribuido actividad proaterogénica y a la Lp PLA 2 asociada a HDL actividad antiaterogénica (167), habiéndose hipotetizado que la HDL secuestra al enzima inactivando el lugar de unión con su sustrato. Aunque que los pacientes con DM1 presentan menores niveles de Lp PLA2 que los pacientes con DM2 (169), varios estudios han demostrado que la actividad de LpPLA2 esta aumentada en individuos con DM1 respecto a controles (170) y que se asocia de forma directa con edad y colesterol LDL y de forma inversa con HbA<sub>1c</sub> y colesterol HDL, manteniéndose la asociación directa con LDL e inversa con HDL en el análisis multivariante. La actividad LpPLA2 total también se ha asociado a mayor riesgo cardiovascular en sujetos con DM1 que además presentaban una PCR elevada(171). En nuestro estudio hemos determinado la actividad de Lp PLA2 total y la unida a las HDL pero no disponemos de la actividad de LpPLA2 unida a LDL ni tampoco de las medidas en un grupo control sano, lo que limita a la hora de ciertas interpretaciones. En nuestro estudio no

hay diferencias entre la actividad total Lp PLA2 ni entre la PCR entre pacientes con y sin lesiones. Sin embargo, como ya hemos indicado, sí detectamos mayor la actividad de Lp PLA2-HDL en individuos con lesiones, tanto si consideramos la media ( $33,9 \pm 9,6$  vs.  $28,1 \pm 8,9$ ) como la mediana ( $43,0$  vs.  $28,0$ ). No tenemos una explicación clara para esta mayor actividad de la Lp PLA2-HDL en los pacientes con lesiones. Se podría hipotetizar sobre su posible implicación dependiendo del grado de lesión aterosclerótica, de forma que se incrementaría en las fases más avanzadas para dar estabilidad a la placa. Tampoco podemos descartar que la distribución de la Lp PLA2 entre la HDL/LDL en los pacientes con DM1 sea algo diferente a la observada en la población general. Por lo tanto, para clarificar estos aspectos necesitamos nuevos estudios en la población con DM1 dirigidos a determinar las concentraciones y distribución de la Lp PLA2 y los factores implicados.

Para determinar qué variables explicaban de forma independiente la presencia de lesiones, se creó un modelo de regresión logística. Las variables seleccionadas en el modelo final fueron sexo, tabaquismo, edad y % LpPLA2-HDL. La probabilidad de presentar lesiones fue 4,8 (OR = 0,21) veces mayor en hombres que en mujeres o lo que es igual los hombres presentaban un 21% más de probabilidad de presentar lesiones en la TCMD. Los que eran fumadores activos o exfumadores presentaban una probabilidad 14,46 veces mayor que una persona no fumadora de presentar lesiones. La interpretación del coeficiente de regresión y la OR en el caso de variables continuas es algo peculiar. De hecho el modelo obtenido calcula una OR para evaluar la asociación entre una variable categórica (lesiones/no lesiones) y una variable continua (edad), lo cual puede parecer un error. En realidad, lo que hace el programa es calcular una OR promedio para cada cambio unitario en la variable independiente edad, 1,17 es la OR o el mayor riesgo de tener lesiones que presenta un paciente con una edad determinada con respecto a otro un año menor, asumiendo que este riesgo es constante para cada par de valores de edad considerados, al

menos en el rango explorado en el estudio. De igual modo el riesgo de un paciente con un valor de % LpPLA2-HDL determinado de presentar lesiones es 1,10 veces mayor que un paciente que tenga un valor de % LpPLA2-HDL una unidad menor. Todas las variables incluidas en el modelo fueron claramente significativas, dado que los valores de p fueron todos ellos inferiores al 5% establecido por  $\alpha < 0,05$ , siendo el factor tabaquismo y la edad los dos que mayor influencia tuvieron a la hora de representar la probabilidad de lesiones. La variabilidad explicada por el modelo alcanzó casi un 59% según el valor de  $R^2$  de Nagelkerke (0,586) (corrección de  $R^2$  de Cox y Snell para una escala 0-1: 0,439). La prueba de bondad de ajuste de Hosmer & Lemeshow en este modelo ( $p = 0,349$ ) indica que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los valores observados y predichos, por lo que el modelo puede considerarse aceptable. Finalmente se llevó a cabo una clasificación de los casos observados y predichos, cuyo resultado global fue del 82,3%. La sensibilidad fue del 80,6% (proporción de pacientes con lesiones correctamente clasificados) y la especificidad de 83,9% (proporción de pacientes sin lesiones correctamente clasificados). El área bajo la curva (ROC) fue 0,871 (IC 95%: 0,783 - 0,959) siendo estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ). Los valores indican que el modelo discrimina correctamente la presencia o no de lesiones a partir de la muestra analizada.

En resumen, los factores que se relacionan de forma independiente y predicen mejor la presencia de lesiones son en nuestra muestra la edad, el sexo, el tabaco y % LpPLA2-HDL; los pacientes que presentan lesiones son más mayores respecto a los que no, con una edad media de  $51,1 \pm 9,1$  vs.  $43,2 \pm 6,1$  años ( $p < 0,001$ ) y el 83,3% de los pacientes que presentan lesiones son fumadores o exfumadores frente al 44,4% de los que no presentan ninguna lesión ( $p = 0,001$ ), siendo estos datos coherentes con otros estudios previamente comentados (140). Rivera y col. (150) también demostraron que en población asintomática existía una fuerte asociación entre el tabaquismo y la presencia de placas no calcificadas, y

la edad, y el género masculino eran predictores de la presencia de aterosclerosis evaluada por TC coronario. En nuestro estudio los hombres tienen un 38% más de probabilidades que las mujeres de presentar lesiones ( $p = 0,090$ ), sin embargo, su intervalo de confianza (95%) contiene el 1, por lo que los datos actuales no permiten evidenciar su significación en relación a la presencia de lesiones.

En consecuencia, nuestros datos confirman que los factores de riesgo cardiovascular clásicos juegan un papel muy importante en el desarrollo de aterosclerosis precoz en los pacientes con DM1. Sin embargo, la búsqueda de nuevos marcadores de riesgo cardiovascular fáciles de medir debería contribuir a predecir con mayor precisión el riesgo e identificar nuevas dianas terapéuticas

#### **8.4.2 Factores asociados a aterosclerosis subclínica carotídea, femoral y poplítea**

En la población general, la edad es el principal factor que condiciona la progresión del GIM y la aparición de placas de ateroma. Hay estudios, no obstante, que certifican que el GIM carotídeo está incrementado en niños, adolescentes y adultos con DM1 comparados con los que no tienen diabetes (172)(173)(174) y que demuestran que existe relación entre el GIM carotídeo y el control glucémico y otros factores de riesgo cardiovascular (173). También hay estudios donde se objetiva la relación entre el GIM carotídeo y la resistencia a la insulina y factores asociados a síndrome metabólico. Pinto CS y col. (175) compararon 81 pacientes con DM1 sanos (sin otros factores de riesgo cardiovascular) con 35 controles. El sexo masculino, el peso y la DM1 se asociaron con mayor GIM carotídeo, siendo el peso la variable que fue más positivamente asociada a GIM en DM1 y grupo control. El estudio realizado por Faienza MF y col. comparando niños con DM1, obesos y controles sanos (176) objetiva que el GIM carotídeo es mayor en pacientes DM1 con glucemia basal elevada

y en pacientes obesos con hiperinsulinemia en comparación con niños sanos. Existen menos estudios con el GIM femoral pero también se ha asociado con los factores de riesgo tradicionales y con la existencia de enfermedad coronaria (33)(34). A pesar de todo lo anterior, a la hora de ver si existían diferencias significativas entre los pacientes que presentaban signos de aterosclerosis precoz por la ecografía (GIM carotídeo y femoral por encima del P75 según los valores de referencia por edad y sexo para población española (33) (118)), no encontramos diferencias significativas en cuanto a factores de riesgo cardiovascular (incluidos edad y sexo) ni control glucémico ni factores asociados a resistencia a la insulina (síndrome metabólico).

Si comparamos en cambio los pacientes con GIM carotídeo que están por encima del P75 de nuestra propia muestra frente a los que están por debajo, no existen diferencias en la edad, sexo, control glucémico, albuminuria y tabaquismo, pero sí en la proporción de hipertensión y dislipemia. En el estudio de Distiller y col.(173) los pacientes con hipertensión presentaron mayor GIM carotídeo medio [0,50 (0,17) vs. 0,43(0,2)  $p = 0,006$ ] y máximo [0,63 (0,23) mm vs. 0,50 (0,2) mm;  $p = 0,011$ ] que los no hipertensos. Atabek y col. (177) compararon un grupo de 159 jóvenes con DM1 y 100 controles. Los pacientes con DM1 presentaron un aumento significativo del GIM carotídeo respecto a los controles, y dentro del grupo de DM1 concretamente el GIM estaba aumentado de forma significativa en aquellos en los que se detectó hipertensión global (23,2%) o hipertensión nocturna (14,4%) respecto al resto. En la cohorte del “DCCT/EDIC” (146), además de la edad, el sexo masculino y la hipertensión, también la albuminuria y el tabaco eran importantes predictores del GIM carotídeo. Las diferencias entre los diferentes estudios pueden estar relacionadas con las diferencias en las poblaciones estudiadas y el tamaño de la muestra. Por otra parte, la adiposidad también se ha relacionado con el GIM carotídeo. En un estudio realizado en Praga (178) se ha visto en mujeres con DM1 una fuerte asociación por un lado entre el GIM

carotideo y el IMC y circunferencia de cintura y por otro del GIM femoral y el porcentaje total de grasa corporal. En nuestro estudio, aunque los pacientes con GIM carotídeo medio y máximo por encima del percentil tienden a tener mayor perímetro de cintura ( $98,1 \pm 11,1$ mm vs.  $93,3 \pm 13,1$ mm y  $96,2 \pm 10,8$  vs.  $93,9 \pm 13,4$ mm respectivamente), las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Sin embargo, los pacientes con GIM carotídeo por encima del P75 presentaban partículas HDL más pobres en colesterol [49 ( $14,4 \pm 1,4$ ) vs. 16 ( $13,5 \pm 1,6$ ) %], que constituye una alteración característica de las situaciones que cursan con síndrome metabólico o resistencia a la insulina.

En cuanto al GIM femoral y poplíteo, en nuestra muestra no se encontraron diferencias significativas en cuanto factores de riesgo cardiovascular, presencia de síndrome metabólico ni diferencias en el control glucémico entre los pacientes que presentaban GIM femoral y poplíteo máximo y/o medio por encima del P75 de la muestra respecto a los que presentaban un GIM femoral y poplíteo inferior. En cambio si analizamos conjuntamente los pacientes con GIM carotídeo y/o femoral por encima del P75, la proporción de pacientes con síndrome metabólico (45,5% vs. 22,2%;  $p = 0,041$ ) es superior a la de los que no. Estos hallazgos confirman en la población con DM1 la estrecha relación del síndrome metabólico y sus componentes en el desarrollo de la enfermedad vascular periférica, incluso por encima de otros factores de riesgo.

### **8.5 Factores asociados al tejido adiposo epicárdico en diabetes tipo 1**

La grasa epicárdica o tejido adiposo epicárdico es una forma particular de grasa visceral que se ubica sobre el miocardio (surcos aurículo-ventricular e interventricular) y alrededor de las arterias coronarias (sin fascia que los separe). En condiciones fisiológicas, actúa como buffer que protege al corazón de la lipotoxicidad y además provee al miocardio de los lípidos necesarios para la obtención de energía mediante la beta-oxidación de ácidos

grasos. En condiciones patológicas ocurre una disfunción que conlleva a una pérdida de su efecto cardioprotector, se produce su expansión y se torna hipotóxico y disfuncional, siendo capaz de liberar a la circulación moléculas proinflamatorias y proaterogénicas (179)(180). Hay estudios prospectivos que han demostrado la asociación entre tejido adiposo epicárdico y eventos cardiovasculares, y esta asociación se ha atribuido a mecanismos paracrinos debido a su proximidad a las arterias coronarias (181). Los pacientes con aterosclerosis coronaria presentan mayor tejido adiposo epicárdico (157) y su aumento se asocia a diferentes factores de riesgo cardiovascular como la DM2 (85), la hipertensión o la obesidad, de forma aislada o formando parte del síndrome metabólico (182). La información en cuanto a grasa epicárdica en pacientes con DM2 es consistente, pero en la DM1 es escasa y determinada mediante la ecocardiografía. La ecocardiografía mide el grosor del tejido adiposo epicárdico, de forma sencilla y sin radiar al paciente, pero dado que su distribución es desigual alrededor del corazón, mediciones en un sólo plano no son representativas y son poco reproducibles. La TC es la prueba oro junto con la resonancia magnética por su mayor precisión y reproductibilidad (183). Nuestro trabajo es el primero que estudia el volumen del tejido adiposo epicárdico medido mediante TC en pacientes DM1 de larga evolución y analiza los factores determinantes del mismo.

A pesar de que el desarrollo de DM1 inicialmente se asocia a individuos con normopeso y en donde el mecanismo etiopatológico es la destrucción de la célula beta por un proceso autoinmune, cada vez es más frecuente la llamada diabetes doble (81), donde individuos con DM1 desarrollan un fenotipo que les confiere resistencia a la insulina y por tanto pueden debutar antes y requerir mayor cantidad de insulina para el control glucémico adecuado. La medición del volumen de grasa epicárdica puede ser un parámetro útil en esta población para determinar el riesgo de desarrollar un evento cardiovascular.

Como hemos indicado previamente, el tejido adiposo epicárdico se ha relacionado con la presencia de síndrome metabólico y mayor riesgo cardiovascular, en individuos no diabéticos (184)(185) y en individuos con DM2 (160). En individuos con DM1, también se han descrito valores mayores de tejido adiposo epicárdico medido mediante ecografía respecto a controles sanos, aunque menores respecto a DM2 (90), y se han relacionado con el síndrome metabólico. El iEAT medio de nuestra muestra fue  $40,47 \pm 22,18$  cc/m<sup>2</sup> superficie corporal, con una mediana de 38,05 (30,49) cc/m<sup>2</sup> superficie corporal, mayor si lo comparamos con la mediana detectada en un grupo de individuos sanos [33,3 (10,8–96,6) cc/m<sup>2</sup> superficie corporal] utilizados por Haim Shmilovich y col. (186) para determinar el valor umbral de iEAT que podía predecir desarrollo de eventos cardiovasculares mayores y que lo situó en el percentil 95 (68,1 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> superficie corporal). Por lo tanto, nuestros hallazgos confirman que la población con DM1 presenta valores elevados de iEAT, concretamente 6 pacientes presentaban un iEAT > 68,1 cc/m<sup>2</sup> superficie corporal. Sin embargo, consideramos que los hallazgos más relevantes tienen que ver con el estudio de los factores asociados al iEAT. En el análisis bivalente, los factores determinantes con relación estadísticamente significativa con el iEAT fueron la edad, el sexo masculino, la presencia de hipertensión, dislipemia y tabaquismo, así como parámetros relacionados con la resistencia a la insulina (cintura, IMC, dosis de insulina, y triglicéridos) y con la presencia global de síndrome metabólico. Los pacientes con mayor iEAT eran mayores, había más porcentaje de hombres, tenían un valor más elevado de IMC y perímetro de cintura, y presentaban mayor proporción de síndrome metabólico. Estos datos concuerdan con estudios previos realizados en individuos sin diabetes y con DM1. El estudio de Bettencourt y col. (187) mostró en sujetos sin diabetes que el volumen de tejido adiposo epicárdico se asociaba con el sexo masculino, la edad, el IMC, la circunferencia abdominal, la grasa visceral abdominal, el número de segmentos con placas de aterosclerosis ( $p < 0,01$ ), el número de segmentos con

estenosis significativa y la presencia de componentes del síndrome metabólico ( $p < 0,05$ ). El tabaquismo en pacientes con síndrome metabólico también es un factor predictor independiente del aumento de tejido adiposo epicárdico (188). En sujetos con DM1 el aumento de grosor del tejido adiposo epicárdico se ha asociado con la edad, dosis de insulina e índice cintura/cadera (89), así como con la presencia de síndrome metabólico (90). El segundo aspecto a destacar es la relación entre iEAT y los marcadores de inflamación y las adipocitoquinas, de tal forma que a mayor volumen de iEAT mayores fueron los niveles de la PCR y la leptina y menores los de la adiponectina. Estos datos son coherentes con los encontrados en la literatura y eran esperables si tenemos en cuenta que la iEAT es una expresión del exceso de grasa visceral y la estrecha relación existente entre la grasa visceral y los marcadores de inflamación, las adipocitoquinas y el incremento del riesgo cardiovascular (189)(190)(191)(192)(189). Nuestros datos confirman y amplían los hallazgos de Iacobellis G y col. (193) que mostraron la presencia de mayor grosor de tejido adiposo epicárdico y niveles de leptina en DM1 frente a controles sin diabetes y la presencia de una fuerte asociación significativa entre estos dos parámetros, independientemente del IMC, HbA<sub>1c</sub> y requerimientos de insulina.

En nuestro conocimiento, este es el primer trabajo que estudia la relación entre la grasa epicárdica y las características de las HDL en la DM1. Concretamente en nuestro estudio a mayor iEAT encontramos mayor proporción de HDL pequeñas (HDL3), pobres en colesterol libre, ricas en apolipoproteínas A-II y C-III, y pobres en apo E. Además de los efectos antes comentados sobre la apoA-II, el incremento de la apo C-III interfiere en el aclaramiento mediado por Apo E de las lipoproteínas ricas en triglicéridos y remanentes mediante receptores celulares, particularmente en el hígado (194). También inhibe la hidrólisis de los triglicéridos por la lipoproteínlipasa y lipasa hepática (195) y tiene múltiples efectos proaterogénicos en la pared arterial, interfiriendo con la función endotelial normal

(196) , por lo que a igual cantidad total de HDL esperaríamos, en individuos más propensos a síndrome metabólico (que se asocia a hipertrigliceridemia) y mayor riesgo cardiovascular, unas HDL con mayor contenido de C-III. Estas alteraciones son características en los pacientes con dislipemia aterogénica y que constituye un potencial nexo de unión entre la grasa epicárdica y el mayor riesgo cardiovascular de estos pacientes.

En el análisis de regresión lineal múltiple para el iEAT, las variables seleccionadas por la función de regresión realizada de acuerdo lo explicado en el apartado de resultados fueron la edad, cintura y apo AII-HDL. Como se indica, la función recoge parámetros relativos a factores demográficos, a componentes del sistema metabólico y de composición de las HDL. Las tres variables seleccionadas fueron muy significativas en la función con valores de p de <0,001, 0,019, y 0,004, para edad, cintura, y apo AII-HDL respectivamente. Los coeficientes de B (no estandarizados) fueron todos ellos positivos; por tanto, a mayor edad mayor perímetro de cintura o a mayor valor de apoA-II ligada a las HDL mayor será el iEAT. La variable edad con coeficiente estandarizado de 0,380 es la que más contribuye al aumento del iEAT, seguida del valor de la apo AII-HDL (0,329) y la cintura (0,278).

Para evaluar el ajuste del modelo de regresión a los datos observados, se utilizaron diferentes estadísticos: el coeficiente de correlación múltiple ( $R= 0,692^a$ ) que informa de la correlación lineal entre los datos observados y los valores predichos por el modelo; el coeficiente de determinación ( $R^2= 0,480$ ) que indica el porcentaje de varianza explicada por la recta de regresión del modelo, el valor de  $R^2$  indica que algo menos de la mitad (48%) de la variación de iEAT es explicada por el modelo. La  $R^2$  corregida es 0,456. El valor de significación de F (distribución de Fisher) =19,96 con p-valor < 0,001, significa que la varianza explicada por el modelo no es debida al azar sino que existe realmente una correlación entre las distintas variables, confirmando que el modelo es bueno. El valor de tolerancia confirma la inexistencia de colinealidad entre las variables. La Tolerancia es el

porcentaje de la varianza de un predictor que no es explicado por otras variables predictoras. Así, la Tolerancia elevada indica inexistencia de colinealidad. Idealmente, la FIV debe ser inferior a 2 como ocurre en el caso de estudio.

Por tanto, en nuestra muestra los factores que predicen de forma independiente el valor del iEAT son la cintura, la edad y la apoAII unida a las HDL, que se asocia a la resistencia a la insulina y al síndrome metabólico.

## **9 CONCLUSIONES**

### **General**

- En los sujetos con DM1 de larga evolución y buen control glucémico desde el diagnóstico, la prevalencia de complicaciones cardiovasculares clínicas y subclínicas es baja y se relaciona con la presencia de factores de riesgo clásicos, con el exceso de grasa ectópica y marcadores de la resistencia a la insulina, y con alteraciones cualitativas de las HDL relacionadas con la dislipemia aterogénica.

### **Específicas**

- En la población estudiada, el grado de control glucémico a lo largo del seguimiento es bueno y en general superior al descrito en estudios poblacionales.
- La proporción de fumadores es elevada y refleja el de la población general española, lo que probablemente refleja insuficiente intervención por tratarse de pacientes con mayor riesgo cardiovascular.
- Un tercio de los pacientes cumple criterios de síndrome metabólico.
- La prevalencia y la gravedad de las complicaciones tardías es baja y se relaciona con el grado de control glucémico, especialmente en las fases iniciales de la enfermedad.
- El 33% de los pacientes con DM1 de larga evolución presenta aterosclerosis subclínica coronaria, carotídea o femoral.
- La aterosclerosis subclínica se asocia con peor control glucémico y un perfil de factores de riesgo cardiovascular clásicos más adverso.

- Los pacientes con aterosclerosis subclínica presentan alteraciones cualitativas de las partículas HDL relacionadas con la composición y la distribución de la actividad fosfolipasa A2 (Lp-PLA2).
- La edad, el género, el tabaquismo y la proporción de la Lp-PLA2 en la HDL explican la presencia de lesiones de aterosclerosis subclínica con una sensibilidad del 81% y una especificidad del 84%.
- El exceso de grasa epicárdica identifica pacientes con DM1 con mayor riesgo cardiometabólico.
- En la DM1, el exceso de grasa epicárdica se asocia con marcadores de la resistencia a la insulina y alteraciones cualitativas de las partículas HDL relacionadas con la dislipemia aterogénica.

## 10 BIBLIOGRAFÍA

1. Shankar A, Klein R, Klein BEK, Moss SE. Association between glycosylated hemoglobin level and cardiovascular and all-cause mortality in type 1 diabetes. *Am J Epidemiol*. 2007 Aug 15;166(4):393–402.
2. Krolewski AS, Kosinski EJ, Warram JH, Leland OS, Busick EJ, Asmal AC, et al. Magnitude and determinants of coronary artery disease in juvenile-onset, insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Cardiol*. 1987 Apr 1;59(8):750–5.
3. Dahl-Jørgensen K, Larsen JR, Hanssen KF. Atherosclerosis in childhood and adolescent type 1 diabetes: early disease, early treatment? *Diabetologia*. 2005 Aug;48(8):1445–53.
4. Dorman JS, Laporte RE, Kuller LH, Cruickshanks KJ, Orchard TJ, Wagener DK, et al. The Pittsburgh insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) morbidity and mortality study. Mortality results. *Diabetes*. 1984 Mar;33(3):271–6.
5. Orchard TJ, Costacou T, Kretowski A, Nesto RW. Type 1 diabetes and coronary artery disease. *Diabetes Care*. 2006 Nov;29(11):2528–38.
6. Chico A, Tomás A, Novials A. Silent myocardial ischemia is associated with autonomic neuropathy and other cardiovascular risk factors in type 1 and type 2 diabetic subjects, especially in those with microalbuminuria. *Endocrine*. 2005 Aug;27(3):213–7.
7. Janand-Delenne B, Savin B, Habib G, Bory M, Vague P, Lassmann-Vague V. Silent myocardial ischemia in patients with diabetes: who to screen. *Diabetes Care*. 1999 Sep;22(9):1396–400.

8. Laing SP, Swerdlow AJ, Slater SD, Botha JL, Burden AC, Waugh NR, et al. The British Diabetic Association Cohort Study, II: cause-specific mortality in patients with insulin-treated diabetes mellitus. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* 1999 Jun;16(6):466–71.
9. Moss SE, Klein R, Klein BE. Cause-specific mortality in a population-based study of diabetes. *Am J Public Health.* 1991 Sep;81(9):1158–62.
10. Koivisto VA, Stevens LK, Mattock M, Ebeling P, Muggeo M, Stephenson J, et al. Cardiovascular disease and its risk factors in IDDM in Europe. EURODIAB IDDM Complications Study Group. *Diabetes Care.* 1996 Jul;19(7):689–97.
11. Orchard TJ, Stevens LK, Forrest KY, Fuller JH. Cardiovascular disease in insulin dependent diabetes mellitus: similar rates but different risk factors in the US compared with Europe. *Int J Epidemiol.* 1998 Dec;27(6):976–83.
12. Soedamah-Muthu SS, Fuller JH, Mulnier HE, Raleigh VS, Lawrenson RA, Colhoun HM. High risk of cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes in the U.K.: a cohort study using the general practice research database. *Diabetes Care.* 2006 Apr;29(4):798–804.
13. Soedamah-Muthu SS, Fuller JH, Mulnier HE, Raleigh VS, Lawrenson RA, Colhoun HM. All-cause mortality rates in patients with type 1 diabetes mellitus compared with a non-diabetic population from the UK general practice research database, 1992-1999. *Diabetologia.* 2006 Apr;49(4):660–6.
14. Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) Research Group, Nathan DM, Zinman B, Cleary PA, Backlund J-YC, Genuth S, et al. Modern-day clinical course of type 1 diabetes

- mellitus after 30 years' duration: the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications and Pittsburgh epidemiology of diabetes complications experience (1983-2005). *Arch Intern Med.* 2009 Jul 27;169(14):1307–16.
15. 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.
  16. Malcom GT, Oalman MC, Strong JP. Risk factors for atherosclerosis in young subjects: the PDAY Study. *Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth.* *Ann N Y Acad Sci.* 1997 May 28;817:179–88.
  17. Wissler RW, Strong JP. Risk factors and progression of atherosclerosis in youth. PDAY Research Group. *Pathological Determinants of Atherosclerosis in Youth.* *Am J Pathol.* 1998 Oct;153(4):1023–33.
  18. Nadeau KJ, Regensteiner JG, Bauer TA, Brown MS, Dorosz JL, Hull A, et al. Insulin resistance in adolescents with type 1 diabetes and its relationship to cardiovascular function. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 Feb;95(2):513–21.
  19. Snell-Bergeon JK, West NA, Mayer-Davis EJ, Liese AD, Marcovina SM, D'Agostino RB, et al. Inflammatory markers are increased in youth with type 1 diabetes: the SEARCH Case-Control study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 Jun;95(6):2868–76.
  20. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction

- and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1999 Jan 7;340(1):14–22.
21. Salonen JT, Salonen R. Ultrasonographically assessed carotid morphology and the risk of coronary heart disease. *Arterioscler Thromb J Vasc Biol Am Heart Assoc*. 1991 Oct;11(5):1245–9.
  22. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation*. 1997 Sep 2;96(5):1432–7.
  23. Hodis HN, Mack WJ, LaBree L, Selzer RH, Liu CR, Liu CH, et al. The role of carotid arterial intima-media thickness in predicting clinical coronary events. *Ann Intern Med*. 1998 Feb 15;128(4):262–9.
  24. Iglesias del Sol A, Bots ML, Grobbee DE, Hofman A, Witteman JCM. Carotid intima-media thickness at different sites: relation to incident myocardial infarction; The Rotterdam Study. *Eur Heart J*. 2002 Jun;23(12):934–40.
  25. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol*. 1997 Sep 15;146(6):483–94.
  26. Chambless LE, Folsom AR, Clegg LX, Sharrett AR, Shahar E, Nieto FJ, et al. Carotid wall thickness is predictive of incident clinical stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Am J Epidemiol*. 2000 Mar 1;151(5):478–87.

27. Hollander M, Bots ML, Del Sol AI, Koudstaal PJ, Witteman JCM, Grobbee DE, et al. Carotid plaques increase the risk of stroke and subtypes of cerebral infarction in asymptomatic elderly: the Rotterdam study. *Circulation*. 2002 Jun 18;105(24):2872–7.
28. Nathan DM, Lachin J, Cleary P, Orchard T, Brillon DJ, Backlund J-Y, et al. Intensive diabetes therapy and carotid intima-media thickness in type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 2003 Jun 5;348(23):2294–303.
29. Margeirsdottir HD, Stensaeth KH, Larsen JR, Brunborg C, Dahl-Jørgensen K. Early signs of atherosclerosis in diabetic children on intensive insulin treatment: a population-based study. *Diabetes Care*. 2010 Sep;33(9):2043–8.
30. Dalla Pozza R, Bechtold S, Bonfig W, Putzker S, Kozlik-Feldmann R, Netz H, et al. Age of onset of type 1 diabetes in children and carotid intima medial thickness. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Jun;92(6):2053–7.
31. Larsen JR, Brekke M, Bergengen L, Sandvik L, Arnesen H, Hanssen KF, et al. Mean HbA1c over 18 years predicts carotid intima media thickness in women with type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2005 Apr;48(4):776–9.
32. Aguilera E, Serra-Planas E, Serra E, Granada ML, Alonso N, Pellitero S, et al. Low prevalence of subclinical atherosclerosis in asymptomatic patients with type 1 diabetes in a European Mediterranean population. *Diabetes Care*. 2014 Mar;37(3):814–20.
33. Junyent M, Gilabert R, Núñez I, Corbella E, Cofána M, Zambón D, et al. Femoral ultrasound in the assessment of preclinical atherosclerosis. Distribution of intima-

- media thickness and frequency of atheroma plaques in a Spanish community cohort. *Med Clínica*. 2008 Nov 1;131(15):566–71.
34. Lekakis JP, Papamichael C, Papaioannou TG, Stamatelopoulos KS, Cimponeriu A, Protogerou AD, et al. Intima-media thickness score from carotid and femoral arteries predicts the extent of coronary artery disease: intima-media thickness and CAD. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2005 Oct;21(5):495–501.
35. Giménez M, Gilabert R, Lara M, Conget I. Preclinical arterial disease in patients with type 1 diabetes without other major cardiovascular risk factors or micro-/macrovascular disease. *Diab Vasc Dis Res*. 2011 Jan;8(1):5–11.
36. Burke GL, Evans GW, Riley WA, Sharrett AR, Howard G, Barnes RW, et al. Arterial wall thickness is associated with prevalent cardiovascular disease in middle-aged adults. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Stroke J Cereb Circ*. 1995 Mar;26(3):386–91.
37. Elkeles RS. Coronary artery calcium and cardiovascular risk in diabetes. *Atherosclerosis*. 2010 Jun;210(2):331–6.
38. Detrano R, Guerci AD, Carr JJ, Bild DE, Burke G, Folsom AR, et al. Coronary calcium as a predictor of coronary events in four racial or ethnic groups. *N Engl J Med*. 2008 Mar 27;358(13):1336–45.
39. Dabelea D, Kinney G, Snell-Bergeon JK, Hokanson JE, Eckel RH, Ehrlich J, et al. Effect of type 1 diabetes on the gender difference in coronary artery calcification: a role for insulin resistance? The Coronary Artery Calcification in Type 1 Diabetes (CACTI) Study. *Diabetes*. 2003 Nov;52(11):2833–9.

40. Bishop FK, Maahs DM, Snell-Bergeon JK, Ogden LG, Kinney GL, Rewers M. Lifestyle risk factors for atherosclerosis in adults with type 1 diabetes. *Diab Vasc Dis Res.* 2009 Oct;6(4):269–75.
41. Schauer IE, Snell-Bergeon JK, Bergman BC, Maahs DM, Kretowski A, Eckel RH, et al. Insulin resistance, defective insulin-mediated fatty acid suppression, and coronary artery calcification in subjects with and without type 1 diabetes: The CACTI study. *Diabetes.* 2011 Jan;60(1):306–14.
42. Chow BJW, Small G, Yam Y, Chen L, Achenbach S, Al-Mallah M, et al. Incremental prognostic value of cardiac computed tomography in coronary artery disease using CONFIRM: COroNary computed tomography angiography evaluation for clinical outcomes: an InteRnational Multicenter registry. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2011 Sep;4(5):463–72.
43. Rana JS, Dunning A, Achenbach S, Al-Mallah M, Budoff MJ, Cademartiri F, et al. Differences in prevalence, extent, severity, and prognosis of coronary artery disease among patients with and without diabetes undergoing coronary computed tomography angiography: results from 10,110 individuals from the CONFIRM (COronary CT Angiography EvaluationN For Clinical Outcomes): an InteRnational Multicenter Registry. *Diabetes Care.* 2012 Aug;35(8):1787–94.
44. Järvisalo MJ, Raitakari M, Toikka JO, Putto-Laurila A, Rontu R, Laine S, et al. Endothelial dysfunction and increased arterial intima-media thickness in children with type 1 diabetes. *Circulation.* 2004 Apr 13;109(14):1750–5.

45. Singh TP, Groehn H, Kazmers A. Vascular function and carotid intimal-medial thickness in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol.* 2003 Feb 19;41(4):661–5.
46. Nadeau KJ, Zeitler PS, Bauer TA, Brown MS, Dorosz JL, Draznin B, et al. Insulin resistance in adolescents with type 2 diabetes is associated with impaired exercise capacity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Oct;94(10):3687–95.
47. Prince CT, Secrest AM, Mackey RH, Arena VC, Kingsley LA, Orchard TJ. Pulse wave analysis and prevalent cardiovascular disease in type 1 diabetes. *Atherosclerosis.* 2010 Dec;213(2):469–74.
48. Zarich SW, Arbuckle BE, Cohen LR, Roberts M, Nesto RW. Diastolic abnormalities in young asymptomatic diabetic patients assessed by pulsed Doppler echocardiography. *J Am Coll Cardiol.* 1988 Jul;12(1):114–20.
49. Lepore G, Bruttomesso D, Nosari I, Tiengo A, Trevisan R. Glycaemic control and microvascular complications in a large cohort of Italian Type 1 diabetic out-patients. *Diabetes Nutr Metab.* 2002 Aug;15(4):232–9.
50. Patterson CC, Dahlquist G, Harjutsalo V, Joner G, Feltbower RG, Svensson J, et al. Early mortality in EURODIAB population-based cohorts of type 1 diabetes diagnosed in childhood since 1989. *Diabetologia.* 2007 Dec;50(12):2439–42.
51. Zgibor JC, Piatt GA, Ruppert K, Orchard TJ, Roberts MS. Deficiencies of cardiovascular risk prediction models for type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2006 Aug;29(8):1860–5.

52. May O, Arildsen H, Damsgaard EM, Mickley H. Cardiovascular autonomic neuropathy in insulin-dependent diabetes mellitus: prevalence and estimated risk of coronary heart disease in the general population. *J Intern Med.* 2000 Dec;248(6):483–91.
53. Rathmann W, Ziegler D, Jahnke M, Haastert B, Gries FA. Mortality in diabetic patients with cardiovascular autonomic neuropathy. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* 1993 Nov;10(9):820–4.
54. Soedamah-Muthu SS, Chaturvedi N, Toeller M, Ferriss B, Reboldi P, Michel G, et al. Risk factors for coronary heart disease in type 1 diabetic patients in Europe: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetes Care.* 2004 Feb;27(2):530–7.
55. Airaksinen KE. Silent coronary artery disease in diabetes--a feature of autonomic neuropathy or accelerated atherosclerosis? *Diabetologia.* 2001 Feb;44(2):259–66.
56. 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 Oct 22;290(16):2159–67.
57. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001 Dec 13;414(6865):813–20.
58. Aronson D, Rayfield EJ. How hyperglycemia promotes atherosclerosis: molecular mechanisms. *Cardiovasc Diabetol.* 2002 Apr 8;1:1.

59. Larsen J, Brekke M, Sandvik L, Arnesen H, Hanssen KF, Dahl-Jorgensen K. Silent coronary atheromatosis in type 1 diabetic patients and its relation to long-term glycemic control. *Diabetes*. 2002 Aug;51(8):2637–41.
60. Orchard TJ, Olson JC, Erbey JR, Williams K, Forrest KY-Z, Smithline Kinder L, et al. Insulin resistance-related factors, but not glycemia, predict coronary artery disease in type 1 diabetes: 10-year follow-up data from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *Diabetes Care*. 2003 May;26(5):1374–9.
61. Eeg-Olofsson K, Cederholm J, Nilsson PM, Zethelius B, Svensson A-M, Gudbjörnsdóttir S, et al. Glycemic control and cardiovascular disease in 7,454 patients with type 1 diabetes: an observational study from the Swedish National Diabetes Register (NDR). *Diabetes Care*. 2010 Jul;33(7):1640–6.
62. Secrest AM, Becker DJ, Kelsey SF, Laporte RE, Orchard TJ. Cause-specific mortality trends in a large population-based cohort with long-standing childhood-onset type 1 diabetes. *Diabetes*. 2010 Dec;59(12):3216–22.
63. Klein BEK, Klein R, McBride PE, Cruickshanks KJ, Palta M, Knudtson MD, et al. Cardiovascular disease, mortality, and retinal microvascular characteristics in type 1 diabetes: Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. *Arch Intern Med*. 2004 Sep 27;164(17):1917–24.
64. 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 Nov 20;371(21):1972–82.

65. Nathan DM, Cleary PA, Backlund J-YC, Genuth SM, Lachin JM, Orchard TJ, et al. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 2005 Dec 22;353(25):2643–53.
66. Ceriello A, Ihnat MA, Thorpe JE. Clinical review 2: The “metabolic memory”: is more than just tight glucose control necessary to prevent diabetic complications? *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Feb;94(2):410–5.
67. Goh S-Y, Cooper ME. Clinical review: The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Apr;93(4):1143–52.
68. Del Prato S. Megatrials in type 2 diabetes. From excitement to frustration? *Diabetologia*. 2009 Jul;52(7):1219–26.
69. The 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 Sep 30;329(14):977–86.
70. DCCT/EDIC Research Group, de Boer IH, Sun W, Cleary PA, Lachin JM, Molitch ME, et al. Intensive diabetes therapy and glomerular filtration rate in type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 2011 Dec 22;365(25):2366–76.
71. Pérez A, Wägner AM, Carreras G, Giménez G, Sánchez-Quesada JL, Rigla M, et al. Prevalence and phenotypic distribution of dyslipidemia in type 1 diabetes mellitus: effect of glycemic control. *Arch Intern Med*. 2000 Oct 9;160(18):2756–62.

72. Sánchez-Quesada JL, Pérez A, Caixàs A, Ordóñez-Llanos J, Carreras G, Payés A, et al. Electronegative low density lipoprotein subform is increased in patients with short-duration IDDM and is closely related to glycaemic control. *Diabetologia*. 1996 Dec;39(12):1469–76.
73. J.L. Sánchez Quesada, A. Pérez Pérez. Atherogenic modifications of LDL particles in diabetic patients. *Av Diabetol*. 2009;25:9-20.
74. Chow E, Heller SR. Pathophysiology of the effects of hypoglycemia on the cardiovascular system. *Diabet Hypoglycemia*. 2012 Jun 15;5(1):3–8.
75. Marques JL, George E, Peacey SR, Harris ND, Macdonald IA, Cochrane T, et al. Altered ventricular repolarization during hypoglycaemia in patients with diabetes. *Diabet Med J Br Diabet Assoc*. 1997 Aug;14(8):648–54.
76. Snell-Bergeon JK, Nadeau K. Cardiovascular disease risk in young people with type 1 diabetes. *J Cardiovasc Transl Res*. 2012 Aug;5(4):446–62.
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 Jan;34(1):198–203.
78. Chow E, Bernjak A, Williams S, Fawdry RA, Hibbert S, Freeman J, et al. Risk of cardiac arrhythmias during hypoglycemia in patients with type 2 diabetes and cardiovascular risk. *Diabetes*. 2014 May;63(5):1738–47.

79. ACCORD Study Group, Gerstein HC, Miller ME, Genuth S, Ismail-Beigi F, Buse JB, et al. Long-term effects of intensive glucose lowering on cardiovascular outcomes. *N Engl J Med*. 2011 Mar 3;364(9):818–28.
80. McGill M, Molyneaux L, Twigg SM, Yue DK. The metabolic syndrome in type 1 diabetes: does it exist and does it matter? *J Diabetes Complications*. 2008 Feb;22(1):18–23.
81. Chillarón JJ, Flores Le-Roux JA, Benaiges D, Pedro-Botet J. Type 1 diabetes, metabolic syndrome and cardiovascular risk. *Metabolism*. 2014 Feb;63(2):181–7.
82. Chillarón JJ, Goday A, Flores-Le-Roux JA, Benaiges D, Carrera MJ, Puig J, 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 Sep;94(9):3530–4.
83. Purnell JQ, Hokanson JE, Marcovina SM, Steffes MW, Cleary PA, Brunzell JD. Effect of excessive weight gain with intensive therapy of type 1 diabetes on lipid levels and blood pressure: results from the DCCT. *Diabetes Control and Complications Trial*. *JAMA*. 1998 Jul 8;280(2):140–6.
84. 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 May;32(5):950–2.
85. Wang C-P, Hsu H-L, Hung W-C, Yu T-H, Chen Y-H, Chiu C-A, et al. Increased epicardial adipose tissue (EAT) volume in type 2 diabetes mellitus and association

- with metabolic syndrome and severity of coronary atherosclerosis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009 Jun;70(6):876–82.
86. Iacobellis G, Ribaldo MC, Zappaterreno A, Iannucci CV, Leonetti F. Relation between epicardial adipose tissue and left ventricular mass. *Am J Cardiol*. 2004 Oct 15;94(8):1084–7.
87. Jeong J-W, Jeong MH, Yun KH, Oh SK, Park EM, Kim YK, et al. Echocardiographic epicardial fat thickness and coronary artery disease. *Circ J Off J Jpn Circ Soc*. 2007 Apr;71(4):536–9.
88. Yun KH, Rhee SJ, Yoo NJ, Oh SK, Kim N-H, Jeong J-W, et al. Relationship between the Echocardiographic Epicardial Adipose Tissue Thickness and Serum Adiponectin in Patients with Angina. *J Cardiovasc Ultrasound*. 2009 Dec;17(4):121–6.
89. Yazıcı D, Özben B, Yavuz D, Deyneli O, Aydın H, Tarcin Ö, et al. Epicardial adipose tissue thickness in type 1 diabetic patients. *Endocrine*. 2011 Oct;40(2):250–5.
90. Momesso DP, Bussade I, Epifanio MA, Schettino CDS, Russo LAT, Kupfer R. Increased epicardial adipose tissue in type 1 diabetes is associated with central obesity and metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011 Jan;91(1):47–53.
91. Aslan AN, Keleş T, Ayhan H, Kasapkara HA, Akçay M, Durmaz T, et al. The Relationship between Epicardial Fat Thickness and Endothelial Dysfunction in Type I Diabetes Mellitus. *Echocardiogr Mt Kisco N*. 2015 Apr 27;

92. The DCCT Research Group. Lipid and lipoprotein levels in patients with IDDM diabetes control and complication. Trial experience. *Diabetes Care*. 1992 Jul;15(7):886–94.
93. Sampaio E, Barbosa DS, Mazzuco TL, Nunes VS, Passarelli M, Nakandakare ER, et al. Impaired antioxidant action of high density lipoprotein in patients with type 1 diabetes with normoalbuminuria and microalbuminuria. *Diabetes Res Clin Pract*. 2013 Mar;99(3):321–6.
94. Sánchez-Quesada JL, Pérez A. Modified lipoproteins as biomarkers of cardiovascular risk in diabetes mellitus. *Endocrinol Nutr Órgano Soc Esp Endocrinol Nutr*. 2013 Nov;60(9):518–28.
95. Kontush A, Chapman MJ. Why is HDL functionally deficient in type 2 diabetes? *Curr Diab Rep*. 2008 Feb;8(1):51–9.
96. Singh IM, Shishehbor MH, Ansell BJ. High-density lipoprotein as a therapeutic target: a systematic review. *JAMA*. 2007 Aug 15;298(7):786–98.
97. Barter PJ, Caulfield M, Eriksson M, Grundy SM, Kastelein JJP, Komajda M, et al. Effects of torcetrapib in patients at high risk for coronary events. *N Engl J Med*. 2007 Nov 22;357(21):2109–22.
98. Maahs DM, Kinney GL, Wadwa P, Snell-Bergeon JK, Dabelea D, Hokanson J, et al. Hypertension prevalence, awareness, treatment, and control in an adult type 1 diabetes population and a comparable general population. *Diabetes Care*. 2005 Feb;28(2):301–6.

99. Collado-Mesa F, Colhoun HM, Stevens LK, Boavida J, Ferriss JB, Karamanos B, et al. Prevalence and management of hypertension in type 1 diabetes mellitus in Europe: the EURODIAB IDDM Complications Study. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* 1999 Jan;16(1):41–8.
100. De Boer IH, Kestenbaum B, Rue TC, Steffes MW, Cleary PA, Molitch ME, et al. Insulin therapy, hyperglycemia, and hypertension in type 1 diabetes mellitus. *Arch Intern Med.* 2008 Sep 22;168(17):1867–73.
101. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999 Jan 14;340(2):115–26.
102. Upadhyay RK. Emerging Risk Biomarkers in Cardiovascular Diseases and Disorders. *J Lipids.* 2015; 2015: 971453.
103. Tuomilehto J, Borch-Johnsen K, Molarius A, Forsén T, Rastenyte D, Sarti C, et al. Incidence of cardiovascular disease in Type 1 (insulin-dependent) diabetic subjects with and without diabetic nephropathy in Finland. *Diabetologia.* 1998 Jul;41(7):784–90.
104. Newman DJ, Mattock MB, Dawney ABS, Kerry S, McGuire A, Yaqoob M, et al. Systematic review on urine albumin testing for early detection of diabetic complications. *Health Technol Assess Winch Engl.* 2005 Aug;9(30):iii – vi, xiii – 163.
105. Orchard TJ, Secrest AM, Miller RG, Costacou T. In the absence of renal disease, 20 year mortality risk in type 1 diabetes is comparable to that of the general population: a report from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *Diabetologia.* 2010 Nov;53(11):2312–9.

106. Groop P-H, Thomas MC, Moran JL, Wadèn J, Thorn LM, Mäkinen V-P, et al. The presence and severity of chronic kidney disease predicts all-cause mortality in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2009 Jul;58(7):1651–8.
107. A. Rubio, J. Salas-Salvadó, M. Barbany, B. Moreno, J. Aranceta, D. Bellido, V. Blay, y col. Consenso SEEDO 2007 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Rev Esp Obes* 2007; 5 (3): 135-175.
108. Zimmet P, M M Alberti KG, Serrano Ríos M. [A new international diabetes federation worldwide definition of the metabolic syndrome: the rationale and the results]. *Rev Esp Cardiol*. 2005 Dec;58(12):1371–6.
109. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes--2014. *Diabetes Care*. 2014 Jan;37 Suppl 1:S14–80.
110. Sánchez-Quesada JL, Benítez S, Otal C, Franco M, Blanco-Vaca F, Ordóñez-Llanos J. Density distribution of electronegative LDL in normolipemic and hyperlipemic subjects. *J Lipid Res*. 2002 May;43(5):699–705.
111. Ribas V, Sánchez-Quesada JL, Antón R, Camacho M, Julve J, Escolà-Gil JC, et al. Human apolipoprotein A-II enrichment displaces paraoxonase from HDL and impairs its antioxidant properties: a new mechanism linking HDL protein composition and antiatherogenic potential. *Circ Res*. 2004 Oct 15;95(8):789–97.
112. Benítez S, Sánchez-Quesada JL, Ribas V, Jorba O, Blanco-Vaca F, González-Sastre F, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase is mainly associated with electronegative low-density lipoprotein subfraction. *Circulation*. 2003 Jul 8;108(1):92–6.

113. Sánchez-Quesada JL, Camacho M, Antón R, Benítez S, Vila L, Ordóñez-Llanos J. Electronegative LDL of FH subjects: chemical characterization and induction of chemokine release from human endothelial cells. *Atherosclerosis*. 2003 Feb;166(2):261–70.
114. Bancells C, Canals F, Benítez S, Colomé N, Julve J, Ordóñez-Llanos J, et al. Proteomic analysis of electronegative low-density lipoprotein. *J Lipid Res*. 2010 Dec;51(12):3508–15.
115. De Juan-Franco E, Pérez A, Ribas V, Sánchez-Hernández JA, Blanco-Vaca F, Ordóñez-Llanos J, et al. Standardization of a method to evaluate the antioxidant capacity of high-density lipoproteins. *Int J Biomed Sci IJBS*. 2009 Dec;5(4):402–10.
116. Rotllan N, Calpe-Berdiel L, Guillaumet-Adkins A, Süren-Castillo S, Blanco-Vaca F, Escolà-Gil JC. CETP activity variation in mice does not affect two major HDL antiatherogenic properties: macrophage-specific reverse cholesterol transport and LDL antioxidant protection. *Atherosclerosis*. 2008 Feb;196(2):505–13.
117. Paz Martorell Lossius M, Escribano Ferrer JM, Vila Coll R, Puras Mallagray E. Guía básica para el estudio no invasivo de las troncos supraaórticos en el laboratorio vascular. *Angiología*. 1999 Mar 1;51(02):55–70.
118. Junyent M, Gilabert R, Núñez I, Corbella E, Vela M, Zambón D, et al. Carotid ultrasound in the assessment of preclinical atherosclerosis. Distribution of intima-media thickness values and plaque frequency in a Spanish community cohort. *Med Clínica*. 2005 Dec 3;125(20):770–4.

119. Lachin JM, Orchard TJ, Nathan DM, DCCT/EDIC Research Group. 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.
120. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes 2015. *Diabetes Care* 2015 Jan; 38 (Supplement 1)
121. The Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). Design and methodologic considerations for the feasibility phase. The DCCT Research Group. *Diabetes*. 1986 May;35(5):530–45.
122. Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC). Design, implementation, and preliminary results of a long-term follow-up of the Diabetes Control and Complications Trial cohort. *Diabetes Care*. 1999 Jan;22(1):99–111.
123. Orchard TJ, Dorman JS, Maser RE, Becker DJ, Ellis D, LaPorte RE, et al. Factors associated with avoidance of severe complications after 25 yr of IDDM. Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study I. *Diabetes Care*. 1990 Jul;13(7):741–7.
124. Orchard TJ, Dorman JS, Maser RE, Becker DJ, Drash AL, Ellis D, et al. Prevalence of complications in IDDM by sex and duration. Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study II. *Diabetes*. 1990 Sep;39(9):1116–24.
125. Palta M, LeCaire T. Managing type 1 diabetes: trends and outcomes over 20 years in the Wisconsin Diabetes Registry cohort. *WMJ Off Publ State Med Soc Wis*. 2009 Aug;108(5):231–5.

126. Eeg-Olofsson K, Cederholm J, Nilsson PM, Gudbjörnsdóttir S, Eliasson B, Steering Committee of the Swedish National Diabetes Register. Glycemic and risk factor control in type 1 diabetes: results from 13,612 patients in a national diabetes register. *Diabetes Care*. 2007 Mar;30(3):496–502.
127. Sastre J, Pinés PJ, Moreno J, Aguirre M, Blanco B, Calderón D, et al. Metabolic control and treatment patterns in patients with type 1 diabetes in Castilla-La Mancha: the DIAbetes tipo 1 in Castilla La Mancha study. *Endocrinol Nutr Órgano Soc Esp Endocrinol Nutr*. 2012 Nov; 59 (9): 539–46.
128. Swedish National Diabetes Register. Annual Report 2013. ([https://www.ndr.nu/pdfs/Annual\\_Report\\_NDR\\_2013.pdf](https://www.ndr.nu/pdfs/Annual_Report_NDR_2013.pdf)).
129. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Gobierno de España. Gabinete de Prensa. (<http://www.msssi.gob.es/gabinete/notasPrensa.do?id=2766>).
130. J.J. Chillarón, M.P.Sales, E.Sagarra, I. Castells, D. Benaiges, J.A. Flores LeRoux y col. Complicaciones crónicas en la diabetes tipo 1. Análisis de una corte de 291 pacientes con un tiempo medio de evolución de 15 años. *Rev Clin Esp*. 2012; 212(8):375-382.
131. Pambianco G, Costacou T, Ellis D, Becker DJ, Klein R, Orchard TJ. The 30-year natural history of type 1 diabetes complications: the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study experience. *Diabetes*. 2006 May;55(5):1463–9.
132. Soedamah-Muthu SS, Chaturvedi N, Witte DR, Stevens LK, Porta M, Fuller JH, et al. Relationship between risk factors and mortality in type 1 diabetic patients in Europe: the EURODIAB Prospective Complications Study (PCS). *Diabetes Care*. 2008 Jul;31(7):1360–6.

133. Weight gain associated with intensive therapy in the diabetes control and complications trial. The DCCT Research Group. *Diabetes Care*. 1988 Aug;11(7):567–73.
134. Schweiger B, Klingensmith G, Snell-Bergeon JK. Physical activity in adolescent females with type 1 diabetes. *Int J Pediatr*. 2010;2010:328318.
135. Thorn LM, Forsblom C, Fagerudd J, Thomas MC, Pettersson-Fernholm K, Saraheimo M, et al. Metabolic syndrome in type 1 diabetes: association with diabetic nephropathy and glycemic control (the FinnDiane study). *Diabetes Care*. 2005 Aug;28(8):2019–24.
136. Chillarón JJ, Flores-Le-Roux JA, Goday A, Benaiges D, Carrera MJ, Puig J, et al. Metabolic syndrome and type-1 diabetes mellitus: prevalence and associated factors. *Rev Esp Cardiol*. 2010 Apr;63(4):423–9.
137. Kilpatrick ES, Rigby AS, Atkin SL. Insulin resistance, the metabolic syndrome, and complication risk in type 1 diabetes: “double diabetes” in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care*. 2007 Mar;30(3):707–12.
138. Romero-Aroca P, Baget-Bernaldiz M, Reyes-Torres J, Fernandez-Ballart J, Plana-Gil N, Mendez-Marin I, et al. Relationship between diabetic retinopathy, microalbuminuria and overt nephropathy, and twenty-year incidence follow-up of a sample of type 1 diabetic patients. *J Diabetes Complications*. 2012 Dec; 26 (6): 506–12.
139. Madaj PM, Budoff MJ, Li D, Tayek JA, Karlsberg RP, Karpman HL. Identification of noncalcified plaque in young persons with diabetes: an opportunity

- for early primary prevention of coronary artery disease identified with low-dose coronary computed tomographic angiography. *Acad Radiol.* 2012 Jul;19(7):889–93.
140. Leem J, Hee Koh E, Jeong E, Jang JE, Lee S-W, Kang J-W, et al. Prevalence of angiographically defined obstructive coronary artery disease in asymptomatic patients with type 2 diabetes according to the coronary calcium score. *Intern Med Tokyo Jpn.* 2012;51(21):3017–23.
141. Hadamitzky M, Hein F, Meyer T, Bischoff B, Martinoff S, Schömig A, et al. Prognostic value of coronary computed tomographic angiography in diabetic patients without known coronary artery disease. *Diabetes Care.* 2010 Jun;33(6):1358–63.
142. Van Werkhoven JM, Cademartiri F, Seitun S, Maffei E, Palumbo A, Martini C, et al. Diabetes: prognostic value of CT coronary angiography--comparison with a nondiabetic population. *Radiology.* 2010 Jul;256(1):83–92.
143. Djaberi R, Schuijf JD, Boersma E, Kroft LJM, Pereira AM, Romijn JA, et al. Differences in atherosclerotic plaque burden and morphology between type 1 and 2 diabetes as assessed by multislice computed tomography. *Diabetes Care.* 2009 Aug;32(8):1507–12.
144. Oliveira DC de, Brito Junior FS de, Fernandes RWA, Sa JR de, Lima VC de. Subclinical coronary artery disease in patients with type 1 Diabetes Mellitus undergoing hemodialysis. *Arq Bras Cardiol.* 2009 Jul;93(1):15–21.
145. Giménez M, Gilabert R, Conget I. Preclinical atherosclerosis in a group of young subjects with type 1 diabetes from a Mediterranean area. *Med Clínica.* 2009 May 23;132(19):740–2.

146. Polak JF, Backlund J-YC, Cleary PA, Harrington AP, O'Leary DH, Lachin JM, et al. Progression of carotid artery intima-media thickness during 12 years in the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) study. *Diabetes*. 2011 Feb;60(2):607–13.
147. Touboul P-J, Grobbee DE, den Ruijter H. Assessment of subclinical atherosclerosis by carotid intima media thickness: technical issues. *Eur J Prev Cardiol*. 2012 Aug;19(2 Suppl):18–24.
148. Aminbakhsh A, Mancini GB. Carotid intima-media thickness measurements: what defines an abnormality? A systematic review. *Clin Investig Med Médecine Clin Exp*. 1999 Aug;22(4):149–57.
149. Lorenz MW, von Kegler S, Steinmetz H, Markus HS, Sitzer M. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range: prospective data from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Stroke J Cereb Circ*. 2006 Jan;37(1):87–92.
150. Rivera JJ, Nasir K, Cox PR, Choi E-K, Yoon Y, Cho I, et al. Association of traditional cardiovascular risk factors with coronary plaque sub-types assessed by 64-slice computed tomography angiography in a large cohort of asymptomatic subjects. *Atherosclerosis*. 2009 Oct;206(2):451–7.
151. Herbst A, Kordonouri O, Schwab KO, Schmidt F, Holl RW, DPV Initiative of the German Working Group for Pediatric Diabetology Germany. Impact of physical activity on cardiovascular risk factors in children with type 1 diabetes: a multicenter study of 23,251 patients. *Diabetes Care*. 2007 Aug;30(8):2098–100.

152. C. Colom, A. Chico, G. Carreras, A. Aulinas, I. Pujol, A. Pérez. Control glucémico y complicaciones crónicas a 20 años del comienzo de la diabetes tipo 1. Resultados de una unidad especializada. *Av Diabetol.* 2015; 31(3):113-119.
153. Kafetzakis A, Kochiadakis G, Laliotis A, Peteinarakis I, Touloupakis E, Igoumenidis N, et al. Association of subclinical wall changes of carotid, femoral, and popliteal arteries with obstructive coronary artery disease in patients undergoing coronary angiography. *Chest.* 2005 Oct;128(4):2538–43.
154. Lekakis JP, Papamichael CM, Cimponeriu AT, Stamatelopoulos KS, Papaioannou TG, Kanakakis J, et al. Atherosclerotic changes of extracoronary arteries are associated with the extent of coronary atherosclerosis. *Am J Cardiol.* 2000 Apr 15;85(8):949–52.
155. Bucciarelli P, Srámek A, Reiber JHC, Rosendaal FR. Arterial intima-media thickness and its relationship with cardiovascular disease and atherosclerosis: a possible contribution of medium-sized arteries. *Thromb Haemost.* 2002 Dec;88(6):961–6.
156. Iwasaki K, Matsumoto T, Aono H, Furukawa H, Samukawa M. Relationship between epicardial fat measured by 64-multidetector computed tomography and coronary artery disease. *Clin Cardiol.* 2011 Mar;34(3):166–71.
157. Kim S-H, Chung J-H, Kwon B-J, Song S-W, Choi W-S. The associations of epicardial adipose tissue with coronary artery disease and coronary atherosclerosis. *Int Heart J.* 2014; 55 (3):197–203.
158. Oka T, Yamamoto H, Ohashi N, Kitagawa T, Kunita E, Utsunomiya H, et al. Association between epicardial adipose tissue volume and characteristics of non-

- calcified plaques assessed by coronary computed tomographic angiography. *Int J Cardiol.* 2012 Nov 1; 161 (1): 45–9.
159. Sarin S, Wenger C, Marwaha A, Qureshi A, Go BDM, Woomert CA, et al. Clinical significance of epicardial fat measured using cardiac multislice computed tomography. *Am J Cardiol.* 2008 Sep 15; 102 (6): 767–71.
160. Versteysen MO, Takx RAP, Joosen IAPG, Nelemans PJ, Das M, Crijns HJGM, et al. Epicardial adipose tissue volume as a predictor for coronary artery disease in diabetic, impaired fasting glucose, and non-diabetic patients presenting with chest pain. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2012 Jun;13 (6): 517–23.
161. Josep Ribalta. La apolipoproteína A-II y las múltiples funciones de la HDL. *Clin Invest Arterioscl.* 2010; 22 (5): 198-199.
162. Namiri-Kalantari R, Gao F, Chattopadhyay A, Wheeler AA, Navab KD, Farias-Eisner R, et al. The dual nature of HDL: Anti-Inflammatory and pro-Inflammatory. *BioFactors Oxf Engl.* 2015 May 6;41(3):153–9.
163. Weng W, Breslow JL. Dramatically decreased high density lipoprotein cholesterol, increased remnant clearance, and insulin hypersensitivity in apolipoprotein A-II knockout mice suggest a complex role for apolipoprotein A-II in atherosclerosis susceptibility. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 Dec 10; 93 (25): 14788–94.
164. Hooft FM van 't, Ruotolo G, Boquist S, Faire U de, Eggertsen G, Hamsten A. Human Evidence That the Apolipoprotein A-II Gene Is Implicated in Visceral Fat Accumulation and Metabolism of Triglyceride-Rich Lipoproteins. *Circulation.* 2001 Sep 11; 104 (11): 1223–8.

165. Parra HJ, Arveiler D, Evans AE, Cambou JP, Amouyel P, Bingham A, et al. A case-control study of lipoprotein particles in two populations at contrasting risk for coronary heart disease. The ECTIM Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1992 Jun 1; 12 (6): 701–7.
166. Toth PP, McCullough PA, Wegner MS, Colley KJ. Lipoprotein-associated phospholipase A2: role in atherosclerosis and utility as a cardiovascular biomarker. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2010 Mar; 8(3): 425–38.
167. Tellis CC, Tselepis AD. Pathophysiological role and clinical significance of lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub> (Lp-PLA<sub>2</sub>) bound to LDL and HDL. *Curr Pharm Des.* 2014; 20 (40): 6256–69.
168. Acevedo M, Varleta P, Kramer V, Quiroga T, Prieto C, Parada J, et al. Association of lipoprotein-associated phospholipase activity A2 with cardiovascular risk factors. *Rev Médica Chile.* 2013 Nov; 141 (11): 1382–8.
169. Nathan N, Denizot Y, Huc MC, Claverie C, Laubie B, Benveniste J, et al. Elevated levels of paf-acether in blood of patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabète Métabolisme.* 1992 Feb; 18 (1): 59–62.
170. De Castro SH, Faria Neto HC de C, Gomes M de B. Platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) activity in patients with type 1 diabetes mellitus. *Arq Bras Cardiol.* 2007 Feb;88(2):179–84.
171. Miller RG, Costacou T, Orchard TJ. Lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub>, C-reactive protein, and coronary artery disease in individuals with type 1 diabetes and macroalbuminuria. *Diab Vasc Dis Res.* 2010 Jan;7(1):47–55.

172. Atabek ME, Kurtoglu S, Pirgon O, Baykara M. Arterial wall thickening and stiffening in children and adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2006 Oct;74(1):33–40.
173. Distiller LA, Joffe BI, Melville V, Welman T, Distiller GB. Carotid artery intima-media complex thickening in patients with relatively long-surviving type 1 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* 2006 Oct;20(5):280–4.
174. Krantz JS, Mack WJ, Hodis HN, Liu C-R, Liu C-H, Kaufman FR. Early onset of subclinical atherosclerosis in young persons with type 1 diabetes. *J Pediatr.* 2004 Oct;145(4):452–7.
175. Pinto CS, Lana JM, Gabbay MAL, de Sa JR, Dib SA. HDL cholesterol levels and weight are the main determinants of subclinical atherosclerosis in the young with type 1 diabetes and suitable glycaemic control. *Diab Vasc Dis Res.* 2014 Mar;11(2):125–8.
176. Faienza MF, Acquafredda A, Tesse R, Luce V, Ventura A, Maggioletti N, et al. Risk factors for subclinical atherosclerosis in diabetic and obese children. *Int J Med Sci.* 2013;10(3):338–43.
177. Atabek ME, Akyürek N, Eklioglu BS, Alp H. Impaired systolic blood dipping and nocturnal hypertension: an independent predictor of carotid intima-media thickness in type 1 diabetic patients. *J Diabetes Complications.* 2014 Feb; 28 (1): 51–5.
178. Piřhová P, Štechová K, Piřha J, Lánská V, Kvapil M. Determinants of preclinical atherosclerosis are different in type 1 and type 2 diabetic women. *Physiol Res Acad Sci Bohemoslov. Physiol. Res.* 2016. 65: 219 -228.

179. Lima-Martínez MM, Iacobellis G. Grasa epicárdica: una nueva herramienta para la evaluación del riesgo cardiometabólico. *Hipertens Riesgo Vasc.* 2011 Mar 1; 28 (2): 63–8.
180. Şengül C, Özveren O. Epicardial adipose tissue: a review of physiology, pathophysiology, and clinical applications. *Anadolu Kardiyol Derg AKD Anatol J Cardiol.* 2013 May;13(3):261–5.
181. Ding J, Hsu F-C, Harris TB, Liu Y, Kritchevsky SB, Szklo M, et al. The association of pericardial fat with incident coronary heart disease: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Am J Clin Nutr.* 2009 Sep; 90 (3): 499–504.
182. Rabkin SW. The relationship between epicardial fat and indices of obesity and the metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Metab Syndr Relat Disord.* 2014 Feb; 12 (1): 31–42.
183. Nichols JH, Samy B, Nasir K, Fox CS, Schulze PC, Bamberg F, et al. Volumetric measurement of pericardial adipose tissue from contrast-enhanced coronary computed tomography angiography: a reproducibility study. *J Cardiovasc Comput Tomogr.* 2008 Oct; 2 (5): 288–95.
184. Greif M, Becker A, von Ziegler F, Lebherz C, Lehrke M, Broedl UC, et al. Pericardial adipose tissue determined by dual source CT is a risk factor for coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009 May; 29 (5):781–6.
185. Dey D, Wong ND, Tamarappoo B, Nakazato R, Gransar H, Cheng VY, et al. Computer-aided non-contrast CT-based quantification of pericardial and thoracic fat and their associations with coronary calcium and Metabolic Syndrome. *Atherosclerosis.* 2010 Mar;209(1):136–41.

186. Shmilovich H, Dey D, Cheng VY, Rajani R, Nakazato R, Otaki Y, et al. Threshold for the upper normal limit of indexed epicardial fat volume: derivation in a healthy population and validation in an outcome-based study. *Am J Cardiol*. 2011 Dec 1;108(11):1680–5.
187. Bettencourt N, Toshke AM, Leite D, Rocha J, Carvalho M, Sampaio F, et al. Epicardial adipose tissue is an independent predictor of coronary atherosclerotic burden. *Int J Cardiol*. 2012 Jun 28;158(1):26–32.
188. Monti M, Monti A, Murdolo G, Di Renzi P, Pirro MR, Borgognoni F, et al. Correlation between epicardial fat and cigarette smoking: CT imaging in patients with metabolic syndrome. *Scand Cardiovasc J SCJ*. 2014 Oct;48(5):317–22.
189. Barrios V, Gómez-Huelgas R, Rodríguez R, de Pablos-Velasco P. Adiponectin: an emerging cardiovascular risk factor. The REFERENCE Study. *Rev Esp Cardiol*. 2008 Nov; 61 (11): 1159–67.
190. Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S, Kawamoto T, Matsumoto S, Ouchi N, et al. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003 Jan 1; 23 (1): 85–9.
191. Rothenbacher D, Brenner H, März W, Koenig W. Adiponectin, risk of coronary heart disease and correlations with cardiovascular risk markers. *Eur Heart J*. 2005 Aug; 26 (16): 1640–6.
192. Palomer X, Pérez A, Blanco-Vaca F. Adiponectin: a new link between obesity, insulin resistance and cardiovascular disease. *Med Clínica*. 2005 Mar 19; 124 (10): 388–95.

193. Iacobellis G, Diaz S, Mendez A, Goldberg R. Increased epicardial fat and plasma leptin in type 1 diabetes independently of obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014 Jul;24(7):725–9.
194. De Silva HV, Lauer SJ, Wang J, Simonet WS, Weisgraber KH, Mahley RW, et al. Overexpression of human apolipoprotein C-III in transgenic mice results in an accumulation of apolipoprotein B48 remnants that is corrected by excess apolipoprotein E. *J Biol Chem.* 1994 Jan 21; 269 (3): 2324–35.
195. Ginsberg HN, Le NA, Goldberg IJ, Gibson JC, Rubinstein A, Wang-Iverson P, et al. Apolipoprotein B metabolism in subjects with deficiency of apolipoproteins CIII and AI. Evidence that apolipoprotein CIII inhibits catabolism of triglyceride-rich lipoproteins by lipoprotein lipase in vivo. *J Clin Invest.* 1986 Nov;78(5):1287–95.
196. Mendivil CO, Rimm EB, Furtado J, Chiuve SE, Sacks FM. Low-density lipoproteins containing apolipoprotein C-III and the risk of coronary heart disease. *Circulation.* 2011 Nov 8;124(19):2065–72.