



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**

Sede Amministrativa: Università degli Studi di Padova

Dipartimento di Scienze cardiologiche, toraciche e vascolari

**SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE MEDICHE, CLINICHE E
SPERIMENTALI-INDIRIZZO SCIENZE DIABETOLOGICHE**

CICLO XXIV

TESI DI DOTTORATO IN

L'effetto a lungo termine dell'infusione subcutanea continua di insulina mediante microinfusore comparato alla terapia insulinica multiiniettiva sulla funzione renale, sul tasso di escrezione urinaria di albumina e sulla pressione arteriosa in pazienti con diabete di tipo 1 con microalbuminuria persistente

Direttore della Scuola: Ch.mo Prof. Gaetano Thiene

Coordinatore d'indirizzo: Ch.mo Prof. Angelo Avogaro

Supervisore: Ch.mo Prof. Angelo Avogaro

Dottorando: Emanuela Zarra

A Mattia e Francesco



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**

TESI DI DOTTORATO IN

**L'effetto a lungo termine dell'infusione subcutanea continua di insulina
mediante microinfusore comparato alla terapia insulinica multiiniettiva
sulla funzione renale, sul tasso di escrezione urinaria di albumina e
sulla pressione arteriosa in pazienti con diabete di tipo 1 con
microalbuminuria persistente**

Dottorando: Emanuela Zarra

Direttore della Scuola: Ch.mo Prof. Gaetano Thiene

Coordinatore d'indirizzo: Ch.mo Prof. Angelo Avogaro

Supervisore: Ch.mo Prof. Angelo Avogaro

Riassunto	pag 5
Summary	pag 7
Introduzione	pag 8
Dati preliminari	pag 17
Scopi	pag 20
Altri obiettivi specifici	pag 20
Pazienti	pag 21
Criteri di inclusione	pag 21
Materiali e metodi	pag 21
Descrizione delle misure	pag 22
HbA1c	pag 22
Livelli di glucosio interstiziale sottocutaneo	pag 22
Valutazione della variabilità glicemica	pag 23
CV	pag 23
MODD	pag 23
Conga-n	pag 24
BG Rate	pag 24
HBGI e LBGI	pag 25
J index	pag 26
ADRR	pag 26
BGRI	pag 26
Valutazione delle escursione glicemiche postprandiali	pag 26
Valutazione della pressione arteriosa	pag 27
GFR	pag 27
Tasso di escrezione urinaria di albumina (AER)	pag 27
8-iso-Prostaglandina F2alfa libera	pag 27
Altri test di laboratorio	pag 28
Attese	pag 28
Analisi statistica	pag 28
Potere statistico	pag 29
Importanza di questo lavoro in relazione alla malattia diabetica e rilevanza	

Riguardo agli obiettivi specifici del programma di ricerca EFDS	pag 29
Risultati	pag 30
Discussione	pag 33
Conclusione	pag 39
Figure	pag 41
Tabelle	pag 42
Bibliografia	pag 47

L'effetto a lungo termine dell'infusione subcutanea continua di insulina mediante microinfusore (CSII) comparato alla terapia insulinica multiiniettiva (MDI) sulla funzione renale, sul tasso di escrezione urinaria di albumina e sulla pressione arteriosa in pazienti con diabete di tipo 1 con microalbuminuria persistente

Riassunto

Scopo. Valutare l'effetto a lungo termine (3 anni) dell'infusione subcutanea continua di insulina mediante microinfusore (CSII) rispetto alla terapia insulinica multiiniettiva (MDI) sul tasso di escrezione di albumina, la funzione renale, la pressione sanguigna e la variabilità della glicemia nei pazienti diabetici di tipo 1 con microalbuminuria persistente in trattamento antipertensivo ottimale (cioè con una dose massima tollerata di ACE-inibitori).

Materiali e metodi. Nello studio prospettico multicentrico sono stati arruolati 50 pazienti con diabete tipo 1 e microalbuminuria persistente di cui 26 erano trattati con CSII e 24 con MDI (con glargine come insulina basale), comparati per età (CSII 40.3 ± 9.3 anni, MDI 42.2 ± 11.1 anni), durata del diabete (CSII 27 ± 8.2 anni, MDI 24.3 ± 10.3 anni), BMI (CSII $24.4 \pm 3.2\%$, MDI $24.7 \pm 4.2\%$). Tutti erano in terapia con la massima dose tollerata di ACE inibitore. Ogni 6 mesi sono stati eseguiti i profili pressori delle 24 ore e il monitoraggio in continuo del glucosio interstiziale e sono state valutate la funzione renale attraverso la velocità di filtrazione glomerulare (GFR), la velocità di escrezione dell'albumina (AER), la escrezione urinaria di 8-iso-PGF₂alfa (come marker di stress ossidativo).

Risultati. Il tasso di escrezione di albumina si è leggermente ridotto nel gruppo MDI da un valore medio di 62 µg/min (31-100 IQR) a 59 µg/min

(33-155 IQR), dopo tre anni di follow-up, mentre si è ridotto significativamente ($p < 0.05$) nel gruppo CSII. In particolare a partire da un valore medio di $72 \mu\text{g}/\text{min}$ (37-154 IQR) a $24 \mu\text{g}/\text{min}$ (11-54 IQR). Solo in 3 pazienti nel gruppo MDI c'è stata regressione a normoalbuminuria alla fine del follow-up, mentre nel gruppo CSII in 14 pazienti c'è stata la regressione alla normoalbuminuria ($p < 0.001$). Il GFR era simile in entrambi i gruppi all'inizio dello studio; durante lo studio si è avuta una maggiore riduzione del GFR nei pazienti trattati con MDI ($-7.9 \pm 9.9 \text{ ml}/\text{min}/\text{anno}$) rispetto a quelli trattati con CSII ($-3.08 \pm 3.3 \text{ ml}/\text{min}/\text{anno}$; $p < 0.05$). I livelli di HbA1c erano simili nei due gruppi all'inizio dello studio ($8.4 \pm 1.5 \%$ vs $8.2 \pm 1.0 \%$ rispettivamente) e sono rimasti invariati nel corso dello studio (HbA1c 7.8 ± 1.2 nel gruppo MDI vs $8.0 \pm 1.1 \%$ nel gruppo CSII), così come gli indici di variabilità glicemica (VG). Il fabbisogno insulinico ed in particolare le dosi totali dei boli di insulina rapida erano significativamente maggiori nel gruppo MDI rispetto al gruppo CSII sia all'inizio (0.36 ± 0.4 vs $0.2 \pm 0.07 \text{ U}/\text{kg}/\text{die}$) che alla fine dello studio (0.28 ± 0.17 vs $0.19 \pm 0.08 \text{ U}/\text{kg}/\text{die}$) ($p < 0.01$). La pressione arteriosa delle 24 ore è stata ben controllata in entrambi i gruppi e stabile per tutta la durata dello studio. Alla fine dello studio, la pressione arteriosa sistolica (SBP) era nel gruppo CSII $127 \pm 13 \text{ mmHg}$, in quello MDI $127 \pm 10 \text{ mmHg}$; la pressione arteriosa diastolica (DBP) era nel gruppo CSII $75 \pm 7 \text{ mmHg}$, in quello MDI $74 \pm 4 \text{ mmHg}$.

Conclusioni: il trattamento insulinico mediante microinfusore, a parità di controllo glicemico, è in grado di rallentare la progressione del danno renale nel diabete di tipo 1. Il maggior fabbisogno insulinico dei pazienti in MDI suggerisce una condizione di insulino-resistenza, possibile fattore di

progressione della nefropatia. Non sembra invece che la variabilità glicemica (VG) giochi un ruolo importante nei risultati ottenuti.

The long-term effect of continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) compared to multiple daily insulin injection (MDI) on renal function, albumin excretion rate and blood pressure in type 1 diabetic patients with persistent microalbuminuria.

Summary

Aim. To evaluate the long-term effect (3 years) of continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) compared to multiple daily insulin injection (MDI) on renal function, albumin excretion rate (AER), blood pressure and blood glucose variability in type 1 diabetic patients with persistent microalbuminuria in optimal antihypertensive treatment (ie, with a maximum tolerated dose of ACE-inhibitors).

Methods. In a multicentre prospective study were enrolled 62 type 1 diabetic patients with persistent microalbuminuria: 26 patients treated with CSII and 24 treated with MDI (with glargine as basal insulin), matched for age (CSII 40.3±9.3 yrs., MDI 42.2±11.1 yrs.), diabetes duration (CSII 27±8.2 yrs, MDI 24.3±10.3 yrs.), BMI (CSII 24.4±3.2%, MDI 24.7±4.2%). All patients were treated with the maximal tolerated dose of ACE-inhibitor therapy. Every 6 months, were performed 24-hour blood pressure profiles and interstitial continuous glucose monitoring and were also determined kidney function as glomerular filtration rate (GFR), albumin excretion rate excretion rate of 8-iso-PGF₂α (as oxidative stress marker).

Results. Albumin excretion rate decreased slightly in MDI group from a median value of 62 µg/min (31-100 IQR) to 59 (33-155 IQR) after three years of follow-up. Albumin excretion rate decreased significantly (p<0.05)

from a median value of 72 $\mu\text{g}/\text{min}$ (37-154 IQR) to 24 (11-57 IQR) in CSII group. In particular only 3 patients in MDI group regressed to normoalbuminuria at the end of follow-up, whereas 14 patients in CSII group regressed to normoalbuminuria ($p < 0.001$). GFR was similar in both groups at entry into the study. During the study a decline of GFR was greater in patients treated with MDI ($-7.9 \pm 9.9 \text{ ml}/\text{min}/\text{yr}$) than those in CSII ($-3.08 \pm 3.3 \text{ ml}/\text{min}/\text{yr}$; $p < 0.05$). A1c levels were similar in MDI and CSII groups at entry into the study ($8.4 \pm 1.5\%$ vs $8.2 \pm 1.0\%$ respectively) and remained unchanged throughout the study (A1c $7.8 \pm 1.2\%$ in MDI group vs $8.0 \pm 1.1\%$ in CSII group). Also glycemic variability index remained unchanged throughout the study. Insulin dose, in particular, total rapid insulin dosage was significantly higher in MDI group than boluses in CSII group both at entry (0.36 ± 0.4 vs $0.2 \pm 0.07 \text{ U}/\text{kg}/\text{day}$) and at the end of study (0.28 ± 0.17 vs $0.19 \pm 0.08 \text{ U}/\text{kg}/\text{day}$) ($p < 0.01$). 24-hour blood pressure was well controlled in both groups and stable throughout the study. At the end of the study the systolic blood pressure (SBP) was CSII group $127 \pm 13 \text{ mmHg}$ and in MDI group $127 \pm 10 \text{ mmHg}$; the diastolic blood pressure (DBP) was in CSII group 75 ± 7 in MDI group $74 \pm 4 \text{ mmHg}$.

Conclusion. Insulin treatment with continuous subcutaneous insulin infusion was associated to a reduction in the progression of renal damage despite a similar glycemic control. The higher insulin requirement of MDI group suggests a state of insulin resistance, a possible factor in the progression of renal disease. Glycemic variability (VG) does not seem to play an important role in the results obtained.

Introduzione

Molti studi, primo tra tutti il Diabetes Control and Complications Trial (DCCT), hanno dimostrato che un trattamento intensivo del diabete determina miglioramento un del controllo glicemico riducendo l'incidenza delle principali complicanze a lungo termine del diabete. In particolare, un miglioramento del controllo metabolico riduce l'incidenza sia di microalbuminuria che di macroalbuminuria (1). Inoltre, durante gli 8 anni di follow-up dopo la fine del DCCT (studio EDIC, Observational Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications), nonostante non ci fosse differenza di HbA1c tra i gruppi inizialmente in trattamento intensivo e convenzionale, la differenza di incidenza di microalbuminuria era ancora altamente significativa e minore nel gruppo trattato in maniera intensiva. Questi risultati suggeriscono un effetto benefico prolungato dello stretto controllo metabolico sullo sviluppo di complicanze microvascolari (2).

Il ruolo del controllo glicemico intensivo nei pazienti con microalbuminuria persistente o nefropatia conclamata, al contrario, rimane controverso .

Anche se diversi studi scandinavi (3-6), con un campione ridotto di pazienti, hanno mostrato una ridotta progressione della microalbuminuria nei pazienti con diabete di tipo 1 e trattati in maniera intensiva, il DCCT (7) e il Microalbuminuria Collaborative Study Group (8) non erano in grado di dimostrare un chiaro vantaggio dello stretto controllo metabolico sulla progressione della microalbuminuria nei pazienti con diabete di tipo 1. Infatti, la grande parte dei pazienti del DCCT erano normoalbuminurici al momento dell'ingresso nello studio. La sottoanalisi dei 73 pazienti con microalbuminuria all'inizio dello studio nel DCCT non ha mostrato alcuna differenza nel tasso di progressione verso la proteinuria clinica; ciò che

dovrebbe essere tenuto presente, tuttavia, è che solo 4 pazienti nel gruppo intensivo e 6 nel gruppo convenzionale hanno sviluppato nefropatia conclamata. Gli effetti protettivi del trattamento insulinico intensivo, al contrario, sono chiaramente emersi durante lo studio EDIC . Infatti alla fine degli 8 anni di follow up di questo studio solo l' 1,4 % dei pazienti trattati inizialmente in maniera intensiva ha sviluppato proteinuria, rispetto al 9,4 % del gruppo convenzionale, con una riduzione del rischio del 84 % (7).

Altri studi, inoltre hanno dimostrato che il controllo metabolico è un fattore predittivo di riduzione del GFR in pazienti di tipo 1 normotesi e normoalbuminurici (9). Inoltre, una ulteriore e recente revisione degli studi DCCT/EDIC in relazione alle complicanze renali nel diabete di tipo 1 ha dimostrato come nel gruppo di pazienti trattati in maniera intensiva il rischio a lungo termine della riduzione del filtrato renale (GFR) è significativamente minore rispetto al gruppo trattato in maniera convenzionale (10).

Un altro studio con un campione di pazienti ridotto, ma molto ben eseguito, ha indagato gli effetti del miglioramento del controllo metabolico sulle lesioni da glomerulopatia nei pazienti con diabete di tipo 1 e microalbuminuria (11). I pazienti sono stati randomizzati a terapia con CSII o al trattamento convenzionale con MDI. Le biopsie renali sono state effettuate al visita basale e dopo un follow up di 2-3 anni. Nonostante la piccola dimensione del campione , nel gruppo trattato con CSII c'è stato un aumento significativo dello spessore glomerulare basale e dell'espansione della matrice mesangiale.

Infine, una normoglicemia prolungata, ottenuta tramite trapianto di pancreas, era in grado di determinare la remissione delle lesioni da glomerulopatia

diabetica in 8 pazienti non uremici, ma con un tasso di escrezione di albumina che andava da normale a nefropatia conclamata (12). Questo studio dimostra indubbiamente che la normoglicemia mantenuta per lungo tempo determina un miglioramento delle lesioni glomerulari nei diabetici tipo 1 in tutte le fasi di coinvolgimento renale.

Anche se non esistono trial di intervento con un campione o una durata significativa che analizzano gli effetti del miglioramento del controllo metabolico nei pazienti di tipo 1 con microalbuminuria, recenti dati osservazionali suggeriscono che il controllo glicemico può avere un ruolo nella progressione della malattia, in particolare nei pazienti in cui la pressione sanguigna è ben controllata (13). Una possibile ragione che spieghi i precedenti risultati negativi è che la pressione sanguigna non è stata trattata in modo aggressivo in questi pazienti. Gli ACE -inibitori sono stati ampiamente utilizzati nel trattamento della microalbuminuria in pazienti con diabete tipo 1 solo dopo la fine di questi studi.

Gli studi sopra menzionati, in particolare il DCCT , hanno dimostrato l'importanza della terapia insulinica intensiva per la prevenzione delle complicanze microvascolari del diabete. La terapia insulinica ideale dovrebbe fornire appropriata insulina basale per coprire il fabbisogno nelle 24 ore, garantire livelli sufficienti per coprire l'assunzione di alimenti, avere un'adeguata disponibilità per la correzione quando necessaria, minimizzare le fluttuazioni della glicemia e quindi il rischio di ipoglicemia ed iperglicemia e raggiungere gli obiettivi fissati a breve e a lungo termine(14). Nel diabete di tipo 1 lo schema terapeutico che più si avvicina al modello fisiologico è il modello “basal-bolus” in cui si somministra insulina in modo da riprodurre la secrezione basale e quella stimolata dal pasto. Ci sono due

approcci principali alla terapia insulinica intensiva: 1) iniezioni multiple giornaliere (MDI) 2) infusione sottocutanea continua di insulina utilizzando una pompa per infusione di insulina esterna (CSII). Sia MDI sia CSII possono essere mezzi efficaci per implementare il trattamento intensivo del diabete, con lo scopo di ottenere una glicemia il più vicino possibile alla norma, minimizzando il rischio di ipoglicemie gravi e rispettando, nel limite del possibile, la qualità di vita del paziente (15).

Negli ultimi dieci anni, nel mondo scientifico c'è stato un continuo e vivace dibattito su quale terapia fosse superiore sia in termini di controllo metabolico che di prevenzione/riduzione delle complicanze. La risposta è importante, in quanto influisce sullo stile di vita, sulle risorse economiche, sul controllo metabolico e sulla sicurezza della terapia del paziente diabetico. Una pompa di insulina ha una serie di vantaggi farmacocinetici, metabolici, sullo stile di vita. Un vantaggio unico rispetto iniezioni di insulina è sicuramente la possibilità di programmare variazioni di dosaggio di insulina basale per soddisfare un previsto aumento o una diminuzione nel bisogno. Questa funzione può essere vantaggiosa nel controllare l'aumento delle glicemie, per esempio prima di colazione (fenomeno dell'alba) o prevenire un'ipoglicemia provocata da un esercizio fisico o da un digiuno prolungato. Quindi la possibilità di impostare diversi profili basali è uno dei principali vantaggi della terapia con CSII. Pickup nella sua metanalisi (16) ha concluso che la terapia con CSII determina un miglioramento del controllo metabolico, in termini di glicata, di circa lo 0,5% che seppur minimo, sulla base dei risultati del DCCT può comportare comunque una riduzione delle complicanze microvascolari, per cui questo dato ci suggerisce che la terapia con microinfusore dovrebbe essere riservata a quei pazienti che presentano

situazione cliniche particolari come per esempio il mancato raggiungimento dell'obiettivo metabolico nonostante terapia insulinica intensiva (17,18), una ipoglicemia grave ricorrente e non prevedibile, soprattutto notturna, una perdita della sensibilità all'ipoglicemia, una elevata VG, una programmazione di gravidanza, la presenza di complicanze microangiopatiche iniziali, la necessità di orari flessibili, una estrema insulino sensibilità (<20u/die), frequenti ospedalizzazioni/visite urgenti per scompenso metabolico acuto, un potenziale miglioramento della qualità di vita (17,19,20).

Dobbiamo considerare però che negli ultimi quindici anni circa, l'approvazione dell'uso dell'insulina glargine come insulina basale ha dimostrato che una MDI con glargine riduce l'incidenza di ipoglicemia e può ottenere un controllo glicemico simile a quello ottenuto con CSII (21,22). Nonostante questo risultato, rimane ancora l'indicazione che la terapia con CSII riduce la VG rispetto ad una dose fissa di insulina glargine (23).

La questione è importante in quanto la variabilità della concentrazione di glucosio nel sangue per tutto il giorno e la notte non riguardano solo la qualità della vita, ma è stato dimostrato essere legata allo sviluppo/progressione delle complicanze.

Nel DCCT l'HbA1c rappresenta il metodo di misura standard del controllo glicemico medio, ma lo stesso studio conclude che "la HbA1c non rappresenta l'espressione più completa del grado del controllo glicemico". Altri aspetti del controllo glicemico nel paziente diabetico, non espressi dall'HbA1c, potrebbero aggiungere informazioni o modificare il rischio di complicanze, come, per esempio, l'entità delle escursioni glicemiche

postprandiali. Ad esempio, nel DCCT il rischio di retinopatia diabetica a parità di livelli sostenuti di HbA1c è risultato significativamente ridotto nel braccio di trattamento intensivo (24). Nei sottogruppi con livelli sostenuti e identici di HbA1c di 9 % per l'intera durata dello studio, il rischio di retinopatia si è ridotto di oltre il 50 % nel gruppo di controllo intensivo. Una rilettura critica di questi dati suggerisce che la VG era più bassa nel gruppo di controllo e che i risultati siano da imputare alla modalità di trattamento e quindi all'impatto della terapia sulla VG piuttosto che ai risultati ottenuti in termini di riduzione dell'HbA1c.

Gli effetti biologici della VG sono stati studiati in numerosi studi in vitro, in modelli animali e negli uomini (25). Lo stress ossidativo, e in particolare l'aumento mitocondriale produzione di anione superossido, è considerato il collegamento tra iperglicemia e complicanze del diabete (26); questo fenomeno può essere accentuato dalle fluttuazioni del glucosio. Dati nell'uomo dimostrano che oscillazioni glicemiche ripetute aumentano i livelli di citochine proinfiammatorie in soggetti normali e inducono disfunzione endoteliale sia in soggetti normali che nei soggetti con diabete (27).

Monnier et al. (28) hanno dimostrato una correlazione lineare tra aumento della produzione di radicali liberi (stimato dai tassi di escrezione urinaria di 8-iso-PGF2alfa libero, un indicatore della produzione di radicali liberi derivato dalla esterificazione dell'acido arachidonico delle membrane cellulari) e l'ampiezza delle fluttuazioni del glucosio in pazienti diabetici tipo 2. Nessuna correlazione è stata trovata tra la produzione di radicali liberi, l'HbA1c e la concentrazione di glucosio media nelle 24 ore. Questa scoperta è importante in quanto può spiegare i risultati del DCCT (24). È

stato anche suggerito che il controllo glicemico può essere più appropriatamente espresso anche in termini di VG insieme con l'HbA1c, piuttosto che dalla sola HbA1c(29). Inoltre qualche anno più tardi, ha dimostrato che la terapia insulinica anche nel paziente di tipo 1 ha un effetto inibitorio sullo stress ossidativo, riducendo i tassi di escrezione urinaria di 8-iso-PGF2alfa libero (30).

Uno studio simile nel diabete tipo 1(31) non ha confermato questi risultati, nel paziente con diabete di tipo 1 non c'è alcuna correlazione tra la VG e i tassi di escrezione urinaria di 8-iso-PGF2alfa libero, suggerendo che oltre alla VG esistono altri fattori che influenzano lo stress ossidativo, anche se va notato che i pazienti con diabete tipo 1 di questo studio avevano un migliore controllo glicemico rispetto ai soggetti con diabete di tipo 2 dello studio di Monnier (HbA1c media 8,2 vs 9,6% nel studio Monnier).

Le evidenze fino ad ora descritte dimostrano che l'aumento acuto di glucosio, non solo causa alterazioni nel soggetto sano normoglicemico, ma anche nei soggetti diabetici, che partono già da un' iperglicemia basale(32). Alla luce di queste evidenze , si può ipotizzare che gli effetti acuti della glicemia si possono sommare a quelli provocati dall'iperglicemia cronica, contribuendo così allo sviluppo delle complicanze croniche. Gli studi epidemiologici (33-36) e gli studi di intervento preliminari (37-39) sembrano supportare questa ipotesi. Tra i diversi meccanismi coinvolti, lo stress ossidativo sembra svolgere un ruolo fondamentale (32).

Inoltre, le escursioni di glucosio nel sangue possono indurre modificazioni nei patterns di pressione sanguigna diurni e notturni (40). Riguardo a quest'ultimo punto, Lurbe et al. hanno dimostrato che i pazienti con diabete di tipo 1 normoalbuminurici che successivamente hanno sviluppato

microalbuminuria avevano valori di pressione arteriosa sistolica notturna superiore rispetto ai pazienti che rimanevano normoalbuminurici; inoltre ancora più interessante è il dato che i livelli di HbA1c erano più elevati nei pazienti che successivamente hanno sviluppato microalbuminuria (41). Infine una recente pubblicazione (42) ha dimostrato che un elevato numero di pazienti diabetici di tipo 1 normoalbuminurici e normotesi, hanno alterazioni di pressione arteriosa rilevati con monitoraggio pressorio delle 24 ore e questi pazienti sono quelli che hanno un BMI maggiore, uno scompenso metabolico cronico e un profilo lipidico più aterogenico.

Un ultimo punto da tenere in considerazione è l'ipoglicemia che rimane ancora il principale fattore limitante nella gestione della terapia insulinica intensiva dei soggetti diabetici (43). Nel DCCT, ad esempio, i tentativi di raggiungere livelli di glucosio quasi normali ha comportato un aumento di 3,3 volte del tasso di ipoglicemia grave. Un frequente automonitoraggio della glicemia (SMBG) è parte integrante della gestione della terapia insulinica intensiva e ha dimostrato di migliorare il controllo glicemico (44). e ha permesso enormi progressi, sia in termini clinici, rendendo possibile il passaggio verso una reale autogestione della malattia (45,46), sia in termini di conoscenza, documentando una serie di aspetti della fisiologia e della fisiopatologia dell'omeostasi glicemica (47,48) che precedentemente erano soltanto intuiti. Per quanto intensificato, però, il SMBG presenta una serie di limiti insuperabili, insiti nel suo carattere intermittente; inoltre i pazienti non sono sempre complianti rispetto ad un frequente SMBG a causa del dolore associato, del disagio creato e della natura invasiva della procedura. Questa consapevolezza ha contribuito a stimolare la messa a punto di tecniche alternative, portando infine alla introduzione dei sistemi di monitoraggio

continuo del glucosio (Continuous Glucose Monitoring, CGMS (49,50). Questi sistemi hanno dato ai pazienti la possibilità di visualizzare i valori di glucosio anche in tempo reale, l'andamento grafico della tendenza dei valori glicemici recenti e di ricevere allarmi/avvisi di imminente ipo o iperglicemia (51,52). Sono stati pubblicati numerosi lavori sull'argomento (53). Studi clinici sui sistemi di monitoraggio in continuo del glucosio hanno, in alcuni casi, dimostrato un miglioramento nel controllo glicemico (54). Uno di questi ha dimostrato escursioni glicemiche ridotte quando i pazienti con diabete tipo 1 hanno utilizzato in continuo per un periodo di tempo abbastanza lungo il monitoraggio glicemico realtime (55). Un approccio metodologicamente superiore è stato quello del gruppo di Pickup (56) che ha dimostrato come i benefici del monitoraggio glicemico in continuo sulla riduzione della glicata e degli eventi ipoglicemici sono legati all'uso in continuo del sistema.

Riassumendo, anche se diversi studi hanno suggerito che uno stretto controllo metabolico potrebbe essere utile nel prevenire la progressione da microalbuminuria a nefropatia conclamata, non vi è alcuna prova evidente di ciò. Anche l'impatto del miglioramento del controllo metabolico e della variabilità della glicemia sui cambiamenti nei profili della pressione arteriosa, della funzione renale e dei valori del tasso di escrezione di albumina nei pazienti con microalbuminuria rimane in gran parte sconosciuta.

Dati preliminari

Abbiamo valutato le relazioni tra la variabilità di glucosio post-prandiale nel sangue e la pressione sanguigna in otto pazienti con diabete di tipo 1 (età 39.7 ± 16.7 anni, durata del diabete 22 ± 14.4 anni, HbA1c 8.4 ± 0.9 %, BMI

24.9±3, kg/m²) con normale tasso di escrezione di albumina. Il profilo di glucosio nel sangue è stato determinato da CGMS System Gold Medtronic MiniMed e della pressione arteriosa da Takeda TM2420 Service, A & D Medical, Giappone (57). Il periodo di glicemia post- prandiale è stato diviso in frazioni di 30 minuti ed sono stati considerati per i calcoli statistici i corrispondenti valori medi di glicemia e di pressione sanguigna. Per analizzare le possibili relazioni tra la glicemia e la pressione sanguigna, i profili di glicemia post- prandiale sono stati divisi in due gruppi in base al valore mediano della massima escursione glicemica postprandiale. Abbiamo evidenziato che la pressione sanguigna si riduce leggermente quando l'aumento di glucosio nel sangue era al di sotto della mediana (SBP da 136.2±21.2 a 132.2±14.2 mmHg, ns, DBP da 87.3±13.8 a 86.4±12.6 mmHg, ns). Al contrario, quando l'aumento della glicemia era superiore alla mediana, c'è stato un significativo aumento della pressione arteriosa (SBP da 130.1±17.7 a 146.6±26.4 mmHg, p<0.05; DBP da 76.4±14.3 a 85±12 mmHg, p<0.05). Questi dati preliminari nei pazienti con diabete di tipo 1 trattati con terapia insulinica intensiva suggerivano che anche piccoli incrementi di glucosio nel sangue dopo i pasti sono associati ad un aumento della pressione sanguigna. Questo carico di pressione sanguigna può svolgere un ruolo importante nella patogenesi delle complicanze diabetiche a lungo termine. L'ipotesi è che ripetuti episodi di stress iperglicemico possono indurre un aumento del carico emodinamico che a sua volta può contribuire allo sviluppo di aumentata escrezione di albumina.

In un altro studio retrospettivo caso-controllo (58), abbiamo confrontato l'effetto della terapia con CSII vs MDI sul tasso di escrezione di albumina in un ampio gruppo di pazienti diabetici di tipo 1, seguito in tre centri diversi

(Università di Padova , diabete Unità dell'Ospedale di Bergamo , diabete Unità dell'Ospedale Niguarda di Milano). 110 pazienti diabetici di tipo 1 con CSII (52 M , 58 F , 39 anni \pm 10 anni , durata del diabete 19 ± 9 anni , HbA1c all'ingresso 8.8 ± 1.5 %) sono stati confrontati con 110 pazienti trattati con MDI comparati al basale per età, sesso , durata del diabete e HbA1c (52 M , 58 F , 39 anni \pm 12 anni, durata del diabete di 20 ± 11 anni , HbA1c 8.9 ± 1.4 %). In ciascun gruppo 90 pazienti avevano un normale tasso di escrezione di albumina (AER) all'entrata e 20 avevano microalbuminuria persistente . Abbiamo raccolto i dati di tre anni di follow up: l'HbA1c, l' AER, il profilo lipidico, la creatinina sierica, il GFR stimato (attraverso la formula MDRD) e la pressione sanguigna Tutti i dati sono stati raccolti ad intervalli di quattro mesi. Nel gruppo che aveva iniziato la terapia con CSII i livelli di HbA1c erano più bassi rispetto al gruppo in terapia con MDI sia dopo 1 anno (8.07 ± 0.9 vs 8.6 ± 1.2 %, $p < 0.005$) che dopo due e tre anni di follow up (8.09 ± 0.9 vs $8,5 \pm 1.3$ %, $p < 0.005$). La pressione sanguigna e la velocità di filtrazione glomerulare stimata è risultata simile nei due gruppi durante tutto il periodo, l'AER, simile nei due gruppi al basale (15 ± 29 vs 10 ± 5 $\mu\text{g}/\text{min}$, ns) non è cambiata in maniera significativa dopo 1 anno. Al contrario l'AER è risultata essere significativamente più bassa nei pazienti trattati con CSII sia al secondo (10 ± 15 vs 18 ± 33 $\mu\text{g}/\text{min}$, $p < 0.05$) che al terzo anno di follow up (9 ± 10 $\mu\text{g}/\text{min}$ vs 20 ± 40 , $p < 0.01$). Lo stesso andamento è stato osservato anche nei pazienti con microalbuminuria, nonostante l'HbA1c in pazienti CSII era simile a quella dei pazienti MDI. Questi dati suggeriscono che la terapia con CSII può essere utile per ridurre il progressivo aumento del tasso di escrezione di albumina nel diabete di tipo 1. Poiché la riduzione della

HbA1c è stata minore rispetto a quella osservata nei pazienti trattati con MDI, il suggerimento è che una variabilità minore di glucosio può essere la ragione per la differenza di AER nei gruppi.

Scopo

Si tratta di uno studio prospettico che vuole valutare l'effetto della terapia CSII rispetto a quella MDI sul tasso di escrezione di albumina, la funzione renale, la pressione sanguigna e la variabilità della glicemia nei pazienti diabetici di tipo 1 con microalbuminuria persistente in trattamento antipertensivo ottimale (cioè con una dose massima tollerata di ACE-inibitori).

Altri obiettivi specifici sono:

- 1) L'impatto del controllo metabolico e della VG sullo stress ossidativo, sulla funzione renale, sul tasso di escrezione urinaria di albumina e sul profilo pressorio delle 24 ore in pazienti con diabete tipo 1 e microalbuminuria.
- 2) Verificare se vi sia un'associazione tra la variabilità di glucosio nel sangue (considerando in particolare le escursioni glicemiche post-prandiali) e la variazione della pressione sanguigna. All'inizio dello studio, in tutti i pazienti è stato applicato il monitoraggio continuo del glucosio e contemporaneamente è stato effettuato un monitoraggio pressorio delle 24 ore.
- 3) Ottenere ulteriori chiarimenti su tale associazione, misurando lo stress ossidativo tramite l'escrezione urinaria di 8-iso-PGF2alfa libero (come marker di stress ossidativo).

Nel periodo di follow up le misure simultanee e continue di glucosio nel sangue e di pressione sanguigna permetteranno di testare l'impatto sul tasso

di escrezione di albumina e l'emodinamica renale , indipendentemente dalla media di HbA1c, e la loro possibile associazione con lo stress ossidativo.

Pazienti

Sono stati arruolati 50 pazienti con diabete tipo1 e microalbuminuria persistente di cui 26 erano trattati con CSII e 24 con MDI (con glargine come insulina basale), comparati per età, durata del diabete, sesso, HbA1c e tasso di escrezione urinaria di albumina.

Criteri di inclusione

Abbiamo selezionato due coorti di pazienti, una comprendeva pazienti con diabete di tipo 1 e microalbuminuria (definita come tasso di escrezione di albumina tra 20 e 200 mcg/ in in almeno due raccolte dell'urina negli ultimi 6 mesi),con durata di malattia di almeno 5 anni e terapia con CSII da almeno 6 mesi prima dell'inizio dello studio; l'altra comprendeva pazienti con diabete di tipo 1 e microalbuminuria (definita con gli stessi criteri) con durata di malattia di almeno 5 anni e terapia con MDI. Ogni paziente di tipo 1 trattato con CSII è stato confrontato con un paziente trattato con MDI, comparati per età, durata del diabete, sesso , HbA1c e tasso di escrezione di albumina (± 10 mcg/min). Tutti i pazienti sono stati trattati con la dose massima tollerata di terapia con ACE-inibitori. L'obiettivo ufficiale dei valori pressori era, per tutti, inferiore a 130/80 mmHg. Tutti i pazienti avevano familiarità con conteggio dei carboidrati e sono stati in grado di cambiare la dose di insulina in base alle variazioni di introito di cibo e dell'esercizio fisico .

Materiali e metodi

Si tratta di uno studio prospettico randomizzato della durata di circa 3 anni che considera due gruppi ben assortiti di pazienti con diabete di tipo 1,

trattati con CSII o MDI. Durante un periodo di run in di 4 settimane , dopo aver firmato il consenso informato, i pazienti hanno continuato il loro abituale trattamento insulinico con CSII o MDI; il dosaggio di insulina è stato ottimizzato, per quanto possibile, per ottenere il miglior controllo glicemico e si è cercato di ottenere anche un'ottimizzazione del controllo pressorio, avendo un obiettivo inferiore a 130/80 mmHg. Dalla prima visita in poi sono state dosate HbA1c e AER. Dalla seconda visita in poi e ogni 6 mesi, in tutti i pazienti, sono stati valutati anche il GFR, le concentrazioni urinarie di 8-iso-PGF2 e i profili di pressione sanguigna e di glucosio, misurati contemporaneamente mediante monitoraggio ambulatoriale della pressione arteriosa (ABMP) e CGMS rispettivamente. Inoltre sono stati eseguiti prelievi per creatinina sierica, potassio, profilo lipidico ed altri parametri di laboratorio di routine. Le visite mediche sono state programmate ogni 8 settimane, mentre ogni sei mesi venivano eseguiti i monitoraggi e le valutazioni precedentemente elencate.

Descrizione delle misure

HbA1c. E' stata dosata al reclutamento (mese -1) e alla fine del run in (mese 0) ogni 3 mesi. Il dosaggio della HbA1c è stato effettuato in un laboratorio standardizzato nei confronti dei risultati ottenuti dal DCCT.

Livelli di glucosio interstiziale sottocutaneo. Sono stati monitorati utilizzando il sistema di monitoraggio continuo di seconda generazione Minimed (Medtronic, Northridge, Calif), applicato al paziente in ambulatorio e della durata di circa 3 giorni consecutivi. Il sensore è stato inserito il giorno 0 e rimosso dopo tre giorni a metà mattina .I dati sono stati scaricati

su un computer per la valutazione della VG, ma calcoli delle variazioni glicemiche si sono limitati ai dati ottenuti nei giorni 1 e 2 per evitare distorsioni dovute sia all'inserimento che alla rimozione del sensore, bypassando gli errori che potrebbero essere legati ad un'insufficiente stabilizzazione del sistema di monitoraggio. Il pattern glicemico di ciascun paziente è stato calcolato facendo la media dei profili ottenuti nei giorni di studio 1 e 2. Attraverso il sistema di monitoraggio continuo della glicemia (CGMS) sono stati calcolati la VG e il rischio, utilizzando la media e la deviazione standard e gli indici sotto indicati.

Valutazione della VG. Nel nostro studio è stata utilizzata l'ampiezza media delle escursioni glicemiche (MAGE), per valutare le fluttuazioni di glucosio durante il giorno. A tal fine, è stato utilizzato il profilo glucosio del giorno 1 e 2. Il calcolo del MAGE è stato ottenuto misurando la media aritmetica delle differenze tra picchi consecutivi e il nadir. La misura di questo parametro, che è stato dimostrato indipendente dalla glicemia media, è di particolare interesse in quanto maggiore è il MAGE, maggiore è la VG.

CV. Il Coefficiente di Variazione è stato calcolato come deviazione standard (SD) diviso la media dei valori di glucosio.

MODD. La "media delle differenze giornaliere" è una misura della variazione giornaliera del pattern di glucosio. È definita come la media delle differenze assolute tra valori di glucosio nel giorno 2 e dei valori corrispondenti al giorno 1, nello stesso momento.

$$\frac{\sum_{t=t_1}^{t_{k^*}} |GR_t - GR_{t-1440}|}{k^*}$$

k^* = number of observations where there is an observation at the same time 24 h ago

CONGA-n. Il “Continuous Overall Net Glycemic Action” è una misura della variazione complessiva intra giornaliera delle registrazioni delle glicemie. Il CONGA-n è definito come la deviazione standard delle differenze tra l'osservazione corrente e l'osservazione n delle ore precedenti. Valori di CONGA elevati indicano quindi una maggiore VG. La scelta della differenza oraria, n , dipenderà dalla domanda clinica a cui si vuole dare una risposta. Il CONGA-1, CONGA-2, CONGA-4 si riferiscono ai risultati corrispondenti a 1, 2 e 4 ore.

$$\sqrt{\frac{\sum_{t=t_1}^{t_{k^*}} (D_t - \bar{D})^2}{k^* - 1}}$$

where

$$D_t = GR_t - GR_{t-m}$$

and

k^* = number of observations where there is an observation $n \times 60$ min ago

$$\bar{D} = \frac{\sum_{t=t_1}^{t_{k^*}} D_t}{k^*}$$

$$m = n \times 60$$

BG rate. Stima la velocità media di fluttuazione del glucosio nel sangue (BG). Questa procedura valuta le dinamiche delle fluttuazioni di BG su scala temporale di minuti. In termini matematici, questa è una valutazione delle proprietà temporali "locali" del sistema. Il tasso di fluttuazione di BG è calcolato come media dei rapporti: $[BG(t_i) - BG(t_{i-1})] / (t_i - t_{i-1})$, dove $BG(t_i)$ e $BG(t_{i-1})$ sono letture consecutivi di BG eseguite nei tempi t_i e t_{i-1} , rispettivamente. Questo calcolo fornisce una stima della pendenza media o della velocità di variazione della funzione (t) , che descrive l'ampiezza delle fluttuazioni temporali dei livelli BG.

HBGI e LBGI. "High Blood Glucose Index"(HBGI) e " Low Blood Glucose Indice " (LBGI) sono calcolati seguendo i tre passaggi di seguito :

1.Simmetrizzazione della scala del BG . Una trasformazione non lineare è

applicata alla scala misurazioni del BG per mappare l'intero range di BG (1.1-33.3 mmol/L o 20-600 mg/dL) a intervallo asimmetrico (-10,10). Il punto 6.25 mmol/L (112.5 mg/dL), che è il centro clinico della scala di BG , viene mappato 0. La forma analitica di questa trasformazione è $f(BG) = \gamma \cdot [(\ln(BG))^{\alpha-\beta}]$, $\alpha, \beta > 0$, dove i parametri sono stimati come $\alpha = 1.026$, $\beta = 1.861$, $\gamma = 1.794$ se BG è misurata in mmol/L , e come $\alpha = 1,084$, $\beta = 5,381$, $\gamma = 1.509$ se BG è misurato in mg/dL.

2 .Assegnazione di un valore di rischio per ogni lettura SMBG . Definiamo la funzione di rischio quadratica $r(BG) = 10 \cdot f(BG)^2$. La funzione $r(BG)$ varia da 0 a 100 . Il valore minimo viene raggiunto con $BG = 6,25$ mm (112,5 mg/dL), una lettura euglicemica di BG, di sicurezza, mentre si raggiunge il suo massimo agli estremi della scala BG. Così, $r(BG)$ può essere interpretato come una misura del rischio associato ad un certo livello BG. Il ramo di sinistra di questa parabola identifica il rischio di ipoglicemia, mentre il ramo di destra identifica il rischio di iperglicemia.

3. Informatica LBGI e HBGI . Posto che x_1, x_2, \dots, x_n sono una serie di n letture di BG , e posto che $rl(BG) = r(BG)$ se $f(BG) < 0$ e diverso da 0; $rh(BG) = r(BG)$ se $f(BG) > 0$ e diverso da 0...LBGI e HBGI vengono quindi definite come :

$$LBGI = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n rl(x_i)$$

$$HBGI = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n rh(x_i)$$

In breve, questi parametri, LBGI e HBGI, sono numeri non negativi, la cui somma può variare teoricamente tra 0 e 100. Entrambi gli indici sono basati su una trasformazione non lineare della scala di BG che applica una simmetria alla distribuzione delle letture di BG per un soggetto. Valori

LBGI e HBGI più grandi indicano rischio ipoglicemico ed iperglicemico più frequenti e/o maggiori, rispettivamente. I valori di LBGI <2.5 o > 5.0 e i valori di HBGI <4.5 o > 9.0 corrispondono rispettivamente a basso e ad alto rischio di grave ipoglicemia e iperglicemia, i valori intermedi indicano rischio moderato. Entrambi i parametri hanno dimostrato di essere sensibili alle escursioni di ipoglicemia o iperglicemia (cioè alla deviazione dalla media di BG), non espresse invece dalla HbA1C.

J index. Viene calcolato attraverso la media e la deviazione standard delle misurazioni di glicemia espresse in mg/dl: $J = 0.001 * (\text{media} + \text{SD})^2$. E' stato riscontrato che l'indice J potrebbe descrivere il controllo della glicemia nel modo seguente: controllo ideale del glucosio $10 \leq J \leq 20$, buon controllo del glucosio $20 < J \leq 30$, scarso controllo glicemico $30 < J \leq 40$, mancanza di controllo del glucosio $J > 40$.

ADRR (average daily risk range). Il "range di rischio medio giornaliero" è calcolato utilizzando il HBGI e LBGI (vedi sopra) come $\text{ADRR} = \text{max HBGI} + \text{max di LBGI}$.

BGRI (blood glucose risk index). L'"indice di rischio della glicemia" è calcolato utilizzando il HBGI e LBGI (vedi sopra) come $\text{BGRI} = \text{HBGI} + \text{LBGI}$.

Valutazione delle escursioni glicemiche post-prandiali. I patterns di glucosio ottenuti da ogni paziente nelle giornate 1 e 2 dello studio sono stati sottoposti ai seguenti calcoli: in primo luogo, i tre valori preprandiali sono stati letti sulle curve temporali. In secondo luogo, le aree incrementali precedenti i valori glicemici pre-prandiali sono state calcolate su un periodo di 4 ore dopo l'inizio di ogni pasto. Terzo, le tre aree incrementali ottenute per ogni giorno di studio sono state sommate e mediate nelle giornate 1 e 2

dello studio per calcolare l'area incrementale postprandiale media sotto la curva in ogni paziente.

Misurazione della pressione arteriosa. Ad ogni visita, la pressione sanguigna è stata misurata tre volte mentre il paziente seduto, dopo un riposo di cinque minuti. E' stata registrata la media delle ultime due misurazioni. Il monitoraggio della pressione arteriosa ambulatoriale (ABPM) è stato eseguito ogni sei mesi con un registratore portatile oscillometrico (Takeda TM2420 Service, A & D Medical, Giappone). L'ABPM è stata eseguita contemporaneamente al monitoraggio continuo del glucosio, durante il primo giorno di monitoraggio continuo del glucosio.

GFR. E' stato misurato mediante la clearance plasmatica di iohexolo non marcato dopo una singola iniezione endovenosa di 5 ml soluzione iohexolo (647 mg / ml Omnipaque 300; Nycomed Amersham Sorin, Milano, Italia), come descritto (59).

Tasso di escrezione urinaria di albumina (AER). L'AER è stato misurato su tre raccolte consecutive di urina durante le 24 ore tramite il tasso di nefelometria (Array 360 System; Beckman, Milano, Italia). Le urine sono state raccolte durante i tre giorni in cui è stato effettuato il monitoraggio continuo del glucosio. La sensibilità del test era di 2 mg/l.

8-iso-Prostaglandina F2alfa libera. Le concentrazioni urinarie di 8-iso-PG alfa F2 sono stata misurate mediante GC-MS tandem. I campioni di urina, raccolti durante i tre giorni in cui è stato effettuato il monitoraggio continuo del glucosio, sono stati scongelati, è stato aggiunto un marcatore standard di 8-iso-PGF2 alla concentrazione di 1 ng/mL (estratto in fase solida in ODS, fase stazionaria più utilizzata in High Performance Liquid Chromatography), e poi sono stati sottoposti a cromatografia a strati sottili su gel di silice. Le

transizioni di $m/z569$ a $m/z299$ di 8-iso-PGF₂ sono stata monitorate mediante GC-MS tandem (60).

Altri test di laboratorio. Creatinina sierica, potassio, profilo lipidico ed altri parametri di laboratorio di routine sono stati misurati mediante analizzatore automatico Beckman Synchron CX5. L'emoglobina glicosilata è stata misurata mediante cromatografia liquida ad alta prestazione (gamma normale laboratorio 3,53-5,21%; Beckman System Gold cromatografo).

Attese

Considerando lo stretto follow-up, ci si aspetterebbe un miglioramento del controllo metabolico sia nei pazienti con CSII che in quelli con MDI, rispetto al periodo di run in. Inoltre, sulla base dei nostri dati preliminari, ci aspetteremmo una diminuzione della progressione del tasso di escrezione di albumina in questo nel gruppo di pazienti con CSII.

Analisi statistica

I confronti medi sono stati effettuati utilizzando il test t per dati non appaiati. Le relazioni tra le variabili sono state studiate per semplice regressione lineare e il calcolo del coefficiente di correlazione di Pearson. I dati relativi all'albumina sono stati trasformati in logaritmi prima del calcolo a causa della distribuzione asimmetrica positiva di escrezione di albumina. Poiché la linearità dell'andamento nel tempo di escrezione di albumina è stato già dimostrato, verrà utilizzato un modello lineare per calcolare il tasso di escrezione di albumina. Molteplici modelli di regressione sono stati utilizzati per esplorare l'influenza di diverse variabili sui tassi di escrezione urinaria di 8-iso PGF_{2a} e aggiustare i valori per le covariate. Le analisi sono state effettuate con il pacchetto statistico SPSS.

Potere statistico

La dimensione del campione è stata calcolata sulla base di una differenza attesa tra l'outcome primario variabile tra pazienti in CSII e MDI. Sulla base dei nostri dati preliminari su una coorte di pazienti con diabete di tipo 1 e microalbuminuria (che avevano una deviazione standard del tasso di escrezione di albumina di 30 mg / min), si è considerata una differenza media di 30 mg/24 h tra i casi e corrispondenti soggetti di controllo; quindi è stato calcolato che, per dare allo studio un potere statistico significativo dell'80% ($p < 0,05$) sulla differenza attesa, dovevano essere inclusi almeno 25 pazienti per gruppo.

Importanza di questo lavoro in relazione alla malattia diabetica e rilevanza riguardo agli obiettivi specifici del programma di ricerca EFSD (Fondazione Europea per lo Studio del Diabete).

Lo sviluppo di complicanze a lungo termine come la nefropatia nel diabete di tipo 1 rimane uno dei principali aspetti della malattia da affrontare. Il compito e l'obbligo nei prossimi anni sarà di ridurre l'incidenza di complicanze nei pazienti con diabete tipo 1. Raggiungere questo obiettivo significherebbe garantire una migliore qualità della vita per i pazienti e ridurre i costi assistenziali, personali e sociali. Probabilmente esiste una predisposizione genetica allo sviluppo di nefropatia diabetica. Tuttavia, esistono prove convincenti che il grado di controllo metabolico rappresenta un fattore critico nello scatenare o accelerare lo sviluppo di complicanze nei pazienti con diabete. Questo studio vuole dimostrare l'ipotesi che la variabilità di glucosio nel sangue, in particolare l'iperglicemia post-prandiale potrebbe contribuire notevolmente ad aumentare il rischio di nefropatia nei pazienti diabetici di tipo 1, eventualmente inducendo un maggior carico di pressione sanguigna. Se questa associazione venisse

dimostrata, sosterrà l'ipotesi che la VG è un fattore di rischio indipendente rispetto all'HbA1c per lo sviluppo/progressione della nefropatia diabetica.

Risultati

Da novembre 2006 a dicembre 2009, sono stati randomizzati in totale 62 pazienti; i dati di follow-up del monitoraggio glicemico in continuo mediante CGMS e quelli relativi al tasso di escrezione di albumina mancavano per 9 pazienti, che quindi non sono stati inclusi nell'analisi iniziale. Dei rimanenti 53 pazienti, 2 sono stati persi subito, prima del primo follow-up, 1 si è ritirato a causa della gravidanza, per cui alla fine sono rimasti per l'analisi iniziale 50 pazienti.

Le caratteristiche basali erano simili nei due gruppi di studio, confermando così il buon appaiamento della popolazione studiata (Tabella 1). Avevano tutti una lunga durata di malattia, una normofunzione renale e microalbuminuria persistente, una pressione arteriosa ben controllata.

Il tasso di escrezione di albumina (tabella 2) si è leggermente ridotto nel gruppo MDI da un valore medio di 62 microg /min (31-100 IQR) a 59 micro/min (33-155 IQR), dopo tre anni di follow-up, ma è risultato essere statisticamente significativo rispetto al tempo 0 solo per il 6 mese, (44 microg/min 24-87 IQR) e per il 24 mese (47 microg /min 26-76 IQR) ($p<0.05$). Nel gruppo CSII, AER è risultata essere statisticamente significativo rispetto al tempo 0 in ogni misurazione successiva ($p<0.05$). In particolare a partire da un valore medio di 72 microg/min (37-154 IQR) al tempo 0 si è arrivati alla fine dello studio a 24 microg/min (11-54 IQR)($p<0.01$). Solo in 3 pazienti nel gruppo MDI c'è stata regressione a normoalbuminuria alla fine del follow-up (ns), mentre nel gruppo CSII in 14 pazienti c'è stata la regressione alla normoalbuminuria ($p<0.001$). Infine in

due pazienti del gruppo MDI c'è stata progressione verso la nefropatia conclamata vs 1 pazienti del gruppo CSII (ns). Confrontando il gruppo in MDI rispetto al gruppo CSII la differenza di AER è risultata essere statisticamente significativa solo al 12esimo, 18esimo e 36esimo mese ($p < 0.05$) (Figura 1).

Il GFR era simile in entrambi i gruppi all'inizio dello studio (tabella 3): CSII 97.8 ± 25.9 vs MDI 101.2 ± 27.4 ml/min/1.73m². Cinque pazienti (2 nel gruppo MDI e 3 nel gruppo CSII) avevano un GFR < 60 ml/min/1.73m² all'ingresso. Si è avuta una riduzione del GFR durante lo studio in entrambi i gruppi: CSII 90.8 ± 25.2 ed MDI 83.8 ± 29.9 ml/min/1.73m², ma alla fine dello studio la riduzione non è risultata essere statisticamente significativa. Tuttavia la riduzione è stata maggiore nei pazienti trattati con MDI rispetto a quelli trattati con CSII, ma è risultata essere statisticamente significativa solo dal 12esimo mese in poi ($p < 0.05$). Il tasso di riduzione è stato significativamente più veloce nel gruppo MDI (-7.9 ± 9.9 ml/min/anno) rispetto al gruppo CSII (-3.08 ± 3.3 ml/min/anno; $p < 0.05$). (Figura 2)

I livelli di HbA1c (tabella 4) erano simili nei due gruppi all'inizio nello studio (CSII 8.2 ± 1 % vs MDI 8.4 ± 1.5 %). Nonostante la stretto di follow up, il controllo metabolico non è migliorato rispetto al periodo di run in, sia nei pazienti con CSII che con MDI. I livelli di HbA1c sono rimasti invariati nel corso dello studio (8.0 ± 1.1 % in gruppo CSII vs 7.8 ± 1.2 % nel gruppo MDI)(ns).

Il dosaggio giornaliero di insulina (tabella 4) è risultato essere significativamente differente tra i due gruppi sia all'inizio che alla fine dello studio: al basale MDI 0.67 ± 0.25 vs CSII 0.5 ± 0.11 U/Kg/die e alla fine dello studio MDI 0.67 ± 0.20 vs CSII 0.53 ± 0.13 U/Kg/die $p < 0.01$). Nel dettaglio,

mentre la dose di glargine nel gruppo MDI era simile al flusso basale di insulina del gruppo CSII sia all'inizio (0.31 ± 0.17 vs 0.29 ± 0.09 U/Kg/die ns) che alla fine dello studio (0.33 ± 0.11 vs 0.34 ± 0.1 U/Kg/die ns), le dosi totali dei boli di insulina rapida erano significativamente maggiori nel gruppo MDI rispetto al gruppo CSII sia all'inizio (0.36 ± 0.4 vs 0.2 ± 0.07 U/Kg/die) che alla fine dello studio (0.28 ± 0.17 vs 0.19 ± 0.08 U/Kg/die) ($p < 0.01$).

C'è stato un minimo aumento di peso corporeo (circa 2 Kg) in entrambi i gruppi alla fine dello studio (tabella 4): il BMI era all'inizio MDI 24.1 ± 3.3 vs CSII 24.4 ± 3.1 Kg/m²; alla fine MDI 24.8 ± 3.5 vs CSII 24.9 ± 3.3 Kg/m² (ns).

Il colesterolo totale (tabella 4) è diminuito in entrambi i gruppi alla fine dello studio (all'inizio MDI 195 ± 33 vs CSII 191 ± 30 mg/dl; alla fine MDI 174 ± 327 vs CSII 185 ± 18 Kg/m² (ns). I livelli di colesterolo HDL (all'inizio MDI 160 ± 15 vs CSII 64 ± 15 Kg/m²; alla fine MDI 60 ± 15 vs CSII 66 ± 13 Kg/m² (ns) e dei trigliceridi (all'inizio MDI 106 ± 99 vs CSII 77 ± 27 Kg/m²; alla fine MDI 92 ± 45 vs CSII 98 ± 69 Kg/m² (ns) sono rimasti invariati.

La escrezione urinaria di 8-iso-PGF_{2 α} (tabella 4) marker presunto di stress ossidativo, è risultata sovrapponibile nei due gruppi durante tutto il periodo di studio (ns).

La Pressione arteriosa delle 24 ore (tabella 5) è stata ben controllata in entrambi i gruppi e stabile per tutta la durata dello studio, non c'è stata nessuna differenza statisticamente significativa. Alla fine dello studio, la pressione arteriosa sistolica (SBP) era nel gruppo CSII 127 ± 13 vs 120 ± 9 mmHg dell'inizio; in quello MDI 127 ± 10 vs 126 ± 13 mmHg dell'inizio (ns); la pressione arteriosa diastolica (DBP) era nel gruppo CSII 75 ± 7 vs 73 ± 7

mm/Hg dell'inizio ,in quello MDI 74 ± 4 vs 75 ± 7 mmHg dell'inizio (ns). La media della deviazione standard dei valori di pressione arteriosa individuali di 24 ore, presa come misura della variabilità della pressione arteriosa , era simile in entrambi i gruppi e stabile durante il periodo di follow - up. Anche la frequenza cardiaca nei due gruppi è stata stabile per tutta la durata dello studio (CSII all' inizio 80 ± 8 , alla fine 80 ± 7 bpm vs MDI all' inizio 80 ± 51 alla fine 80 ± 10 bpm ns)

Infine, riguardo alle misure di VG (tabella 6) è risultata simile nei due gruppi per tutta la durata dello studio (ns).

Discussione

Il presente studio per la prima volta dimostra prospetticamente che un trattamento insulinico mediante microinfusore in diabetici di tipo 1 con microalbuminuria persistente è in grado non solo di arrestare la progressione, ma anche di indurre un significativo miglioramento dei parametri di funzione renale nei confronti di pazienti trattati con MDI. La novità inaspettata dei nostri risultati è che tale beneficio della terapia mediante microinfusore non appare legata a un miglioramento del controllo glicemico medio, né a una minore VG.

E' già stato dimostrato anche nei pazienti con diabete di tipo 1 il fenomeno della remissione/regressione della microalbuminuria (61,62). Inoltre in uno studio osservazionale prospettico di 286 pazienti con diabete di tipo 1 microalbuminurici (63) un tasso di escrezione urinaria di albumina basso è stato predittore di uno sviluppo minore di nefropatia conclamata.

Riguardo al primo end point del nostro studio, cioè le modifiche del tasso di escrezione di albumina e della pressione sanguigna nei due gruppi di trattamento, abbiamo dimostrato che il trattamento con CSII è associato

significativo miglioramento dell'AER con una importante percentuale di pazienti che mostrano regressione verso la normoalbuminuria rispetto al gruppo trattato con MDI. Questo risultato è stato raggiunto nonostante una HbA1c e un controllo della pressione arteriosa simile nei due gruppi di trattamento durante tutta la durata dello studio.

Anche se la letteratura (64, 65) dimostra che la terapia con CSII determina un miglioramento dello 0.5% in termini di glicata, nel nostro studio non ci sono state differenze nel controllo metabolico tra i due gruppi di trattamento. Questo dato può essere legato al fatto che, nonostante i controlli ambulatoriali frequenti e la continua educazione per l'ottimizzazione della terapia insulinica, i pazienti con microalbuminuria sono soggetti "difficili" spesso poco disponibili ad un miglioramento della loro gestione della malattia diabetica.

Neanche i valori pressori sono risultati essere statisticamente significativi nei due gruppi di trattamento. Questo dato non è sorprendente dal momento che tutti i pazienti fin dall'ingresso nello studio sono stati trattati in modo aggressivo con la massima dose tollerata di farmaci che inibiscono il sistema renina-angiotensina.

Anche se non esiste nessun trial di intervento con un campione di pazienti o una durata dello studio significativa che esamini l'effetto del miglioramento del controllo metabolico in pazienti di tipo 1 e microalbuminuria, dati osservazionali suggeriscono che il controllo glicemico ha un ruolo nella progressione della malattia renale, in particolare nei pazienti la cui pressione è ben controllata (13). Una possibile spiegazione per i precedenti risultati negativi è che la pressione sanguigna non era stata trattata aggressivamente in quei pazienti. La pressione sanguigna non è solo un importante

determinante della microalbuminuria nei pazienti con diabete di tipo 1 pazienti, ma svolge anche un ruolo importante nella progressione dalla microalbuminuria alla nefropatia conclamata. Nel nostro studio, tutti i pazienti sono stati trattati con massima dose tollerata di ACE inibitore e non sono state trovate differenze nella pressione sanguigna durante tutto il periodo di follow up, escludendo quindi la possibilità che la terapia con CSII potesse migliorare il controllo pressorio. Quindi ciò confermerebbe che l'effetto del trattamento con CSII su AER è indipendente dalla terapia.

Riguardo al GFR, anche se in entrambi i gruppi di trattamento è stata osservata una significativa riduzione del GFR durante i 3 anni di follow-up, la velocità di perdita di funzione renale è risultata significativamente più rapida nel gruppo MDI. Questo dato associato ad un peggiore tasso di escrezione di albumina sosterebbe, in sostanza, che la progressione della malattia renale era maggiore nei pazienti trattati con MDI e che questi pazienti potrebbero avere una maggiore incidenza di mortalità per tutte le cause cardiovascolari (66).

A questo punto appare evidente un dato: visto che il nostro end point è stato raggiunto, nonostante una HbA1c e un controllo della pressione arteriosa simile nei due gruppi di trattamento durante tutta la durata dello studio, esistono altri fattori, oltre all'iperglicemia, responsabili della patogenesi del danno renale.

Infatti, un altro risultato molto interessante è stato quello relativo al fabbisogno di insulina, sia come dose totale giornaliera che come boli che è risultato essere significativamente maggiore nel gruppo trattato con MDI rispetto al gruppo trattato con CSII durante tutto il periodo dello studio. Sebbene questa riduzione del dosaggio dell'insulina non ha portato ad un

cambiamento significativo del peso corporeo tra i due gruppi, il maggior fabbisogno insulinico dei pazienti in MDI rispetto ai pazienti in CSII suggerisce una condizione di insulino-resistenza, possibile fattore di progressione della nefropatia. Pertanto nei pazienti trattati con microinfusore l'azione insulinica sembra essere più efficace, soprattutto nella gestione delle fasi post-prandiali. Questi dati sono rilevanti dal momento che è ben noto che i pazienti con diabete di tipo 1 di lunga durata e microalbuminuria, presentano maggiore insulino-resistenza, correlata ad un maggiore tasso di escrezione urinaria di albumina (67-71). Questi risultati risulterebbero indipendenti sia dal controllo pressorio, sia da quello metabolico che dal GFR perchè per tutti questi parametri non ci sono differenze staticamente significative tra i due gruppi. Un possibile meccanismo che spieghi questa associazione potrebbe essere legato ad una modifica del riassorbimento renale del sodio insulino-mediato. E' stato dimostrato (72) che alti livelli di insulina possono infatti causare un aumentato riassorbimento renale del sodio nei pazienti diabetici di tipo 1; questo aumenterebbe la permeabilità e la pressione intraglomerulare, entrambi favorevoli alla perdita di albumina e i processi di ipertrofia e iperplasia delle cellule mesangiali (73) con aumentata produzione locale di citochine e fattori di crescita ed aumento della matrice extracellulare.

Sebbene il precedente studio (72) non chiarisca il meccanismo responsabile delle anomalie descritte nei pazienti con diabete di tipo 1 e microalbuminuria, diverse interpretazioni possono essere proposte per spiegare la relazione tra insulino-resistenza e sodio-sensibilità. In primo luogo, è stato descritto nei soggetti obesi ed ipertesi un ruolo dell'insulino-resistenza nel mediare una ridotta vasodilatazione (74,75). Nei pazienti con

diabete di tipo 1 e microalbuminuria, la vasodilatazione endotelio-dipendente è compromessa (76,77). La resistenza delle cellule muscolari lisce della parete vasale all'effetto vasodilatatore della insulina potrebbe quindi rendere ragione dell'aumento della pressione arteriosa dopo l'apporto sodico, come conseguenza della ritenzione sodica e dell'aumento della resistenza periferica. Inoltre, è noto che l'insulina aumenta la responsività della muscolatura liscia vascolare agli agenti pressori (78). Resta da chiarire se la sodio-sensibilità della pressione arteriosa, la alterata modulazione renale e la ridotta azione insulinica precedano la comparsa della microalbuminuria. Anomalie del metabolismo lipidico e glucidico sono state riscontrate nei parenti di primo grado di pazienti con diabete di tipo 1 e microalbuminuria (79) Ciò suggerisce che la microalbuminuria rientri in un complesso disordine metabolico ed emodinamico (80).

E' interessante comunque segnalare che un studio multicentrico ha osservato come un polimorfismo della proteina PC-1 (una molecola che media l'azione intracellulare dell'insulina) sia associato ad una più veloce progressione della nefropatia diabetica. Questo dato rafforza il ruolo primario dell'insulino-resistenza nella genesi e progressione del danno renale (81).

Nel nostro studio non ci sono state differenze statisticamente significative riguardo all'assetto lipidico, anche se in letteratura numerosi dati sperimentali in animali e dati preliminari nell'uomo (82) supportano il concetto che i lipidi avere un ruolo patogenetico in danno renale.

Infine, anche i dati di variabilità e di stress ossidativo non sono risultati essere statisticamente significativi tra i due gruppi. Questo punto è importante perché la VG influenza sia la qualità di vita che il possibile

sviluppo di complicanze. L'argomento è oggetto di discussione in letteratura. Riguardo alla correlazione tra il tipo di terapia e la VG, molti studi hanno dimostrato che la terapia con CSII rispetto a MDI con glargine come insulina basale (83,84) riduce la variabilità, a parità di controllo metabolico (83-86). Però, in un recente trial randomizzato (87) confrontando la terapia CSII con MDI non è trovata differenza statisticamente significativa in termini di VG, a sostegno dei nostri dati.

Anche il dibattito sulla correlazione tra VG e complicanze microvascolari è vivace. Una recente review (88) analizza la correlazione tra VG e complicanze, anche nel diabete di tipo 1. Ad esempio, uno studio svedese ha valutato la VG in 100 pazienti, calcolando la deviazione standard dei livelli di glicemia per un periodo di 4 settimane; i pazienti, poi sono stati seguiti per un periodo di 11 anni, monitorando lo sviluppo di complicanze microvascolari (89). La VG è stata un predittore di neuropatia periferica, ma non di retinopatia o nefropatia. Un report del gruppo di studio sulla nefropatia finlandese ha dimostrato, invece nei pazienti con diabete di tipo 1 che la VG era predittiva di sviluppo di microalbuminuria e progressione di malattia renale, (90).

Abbiamo già citato che una rilettura critica dei dati del DCCT suggerisce che la VG era più bassa nel gruppo di controllo e che i risultati siano da imputare alla modalità di trattamento e quindi all'impatto della terapia sulla VG piuttosto che ai risultati ottenuti in termini di riduzione dell'HbA1c. Questa interpretazione non è univocamente accettata. Infatti, una nuova analisi del DCCT, sostiene che l'aumento di rischio osservato era in realtà una distorsione dovuta al tipo di analisi statistica utilizzato (91) Kilpatrick (92,93), analizzando il database del DCCT, ha sostenuto che la VG non

sembra essere un ulteriore fattore implicato nello sviluppo delle complicanze microvascolari e che solo l'aumento dell'HbA1c si associa proporzionalmente ad un maggiore rischio di sviluppo di microangiopatia (93). Gli stessi Servizio e O'Brien (94), hanno sostenuto, utilizzando l'analisi di regressione di Cox, che non esiste una correlazione tra VG e sviluppo/progressione di retinopatia. Infine DeVries sostiene che nel paziente con diabete di tipo 1 non c'è alcuna correlazione tra la VG e i tassi di escrezione urinaria di 8-iso-PGF2alfa libero, suggerendo che oltre alla VG esistono altri fattori che influenzano lo stress ossidativo (31).

In letteratura, i dati sulla correlazione tra VG e sviluppo di complicanze microvascolari e sul suo trattamento, nel paziente con diabete di tipo 1, indipendentemente dal controllo metabolico sono limitati e non univoci.

Conclusioni

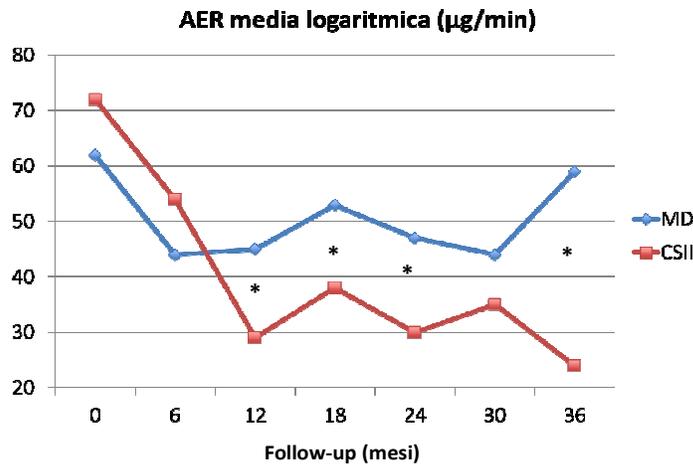
Nel presente studio la significativa riduzione della albuminuria nel gruppo CSII verso il gruppo MDI, confermata dalla regressione alla normoalbuminuria di più del 50% dei pazienti dimostra per la prima volta prospetticamente che il trattamento insulinico mediante microinfusore in diabetici di tipo 1 con microalbuminuria persistente è in grado non solo di arrestare la progressione, ma anche di indurre un significativo miglioramento dei parametri di funzione renale nei confronti di pazienti trattati con MDI.

La novità inaspettata dei nostri risultati è che tale beneficio della terapia mediante microinfusore non appare legata a un miglioramento del controllo glicemico medio, né a una minore VG. Questi dati dimostrano pertanto che altri fattori, oltre all'iperglicemia, sono responsabili della patogenesi del danno microangiopatico. Il maggior fabbisogno insulinico dei pazienti in

MDI rispetto ai pazienti in CSII suggerisce una condizione di maggiore insulino-resistenza, possibile fattore di progressione della nefropatia. Un possibile meccanismo che spieghi questa associazione potrebbe essere legato ad modifica del riassorbimento renale del sodio insulino-mediato. Infatti alti livelli di insulina possono essere coinvolti nella modifica del riassorbimento renale del sodio nei pazienti diabetici di tipo 1, determinando un aumento della pressione intraglomerulare, uno dei meccanismi coinvolti nella patogenesi della microalbuminuria e della progressione del danno renale.

Non sembra invece che la VG giochi un ruolo importante nei risultati ottenuti. In ogni caso bisogna raggiungere l'obiettivo terapeutico corretto, sia considerando la glicata che le oscillazione glicemiche, perchè ridurre l'incidenza di complicanze nei pazienti con diabete tipo 1 significherebbe garantire una migliore qualità della vita per i pazienti e ridurre i costi assistenziali, personali e sociali.

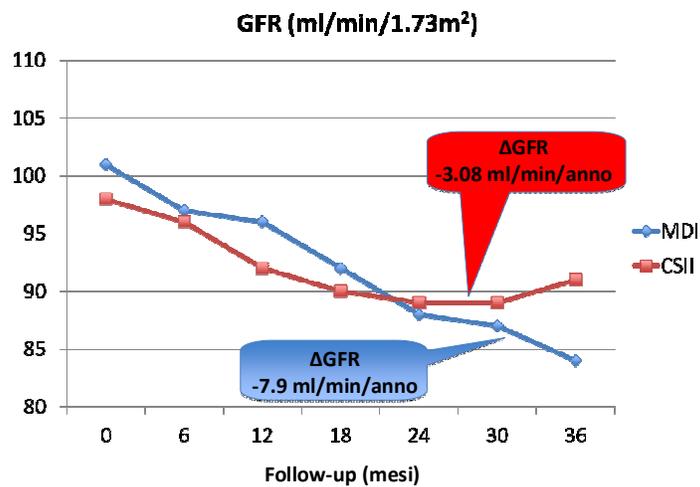
Velocità di escrezione di albumina nei diabetici di tipo 1 con microalbuminuria trattati con CSII o MDI durante i 3 anni di follow-up



* $p < 0.05$ CSII vs MDI

Figura 1

Velocità di Filtrazione Glomerulare (GFR) nei diabetici di tipo 1 con microalbuminuria trattati con CSII o MDI durante i 3 anni di follow-up



* $p < 0.05$ CSII vs MDI

Figura 2

Tabella 1: caratteristiche basali dei pazienti

	CSII	MDI
N (Maschio/Femmina)	26 (17/9)	24 (17/7)
Età (anni)	40.3±9.3	42.2±11.1
BMI (Kg/m²)	24.4±3.2	24.7±4.2
Durata del diabete (anni)	27±8.2	24.3±10.3
HbA1c (%)	8.12±1.11	8.96±1.61*
Colesterolo totale (mg/dl)	187.6±21.5	193.8±30.9
Colesterolo -HDL (mg/dl)	64.3±16.4	57.1±16.8
Trigliceridi (mg/dl)	93.3±53.9	113.7±113.9
Creatinina (mg/dl)	0.95±0.31	0.93±0.27
AER (mg/24hr)^a	81 (24- 195)	92 (22-169)
SBP (mmHg)	128±19	123±15
DBP (mmHg)	74±6	74±10
Retinopatia(numero)	7/19	6/18
(Background/Proliferativa)		

^amedian (range)

*p < 0.05

Tabella 2: tasso di escrezione di albumina (media logaritmica con range Interquartile)

	Tempo (mesi)						
	0	6	12	18	24	30	36
AER($\mu\text{g}/\text{min}$)							
CSII	72 (37-154)	54 (27-109) *	29 (19-57) *	38 (35-87) *	30(13-74)*	35(20-126) *	24(11-54)*
MDI	62(31-100)	44 (24-87) *	45(26-137)	53 (23-213)	47(26-76)*	44 (36-104)	59(33-155)

*p < 0.05 per ogni gruppo rispetto al tempo 0

**p < 0.01 rispetto al tempo 0

Tabella 3: GFR (ml/min/1.73m²)

	Tempo (mesi)						
	0	6	12	18	24	30	36
GFR(ml/min/1.73m²)							
CSII	97.8 \pm 25.9 *	95.5 \pm 25.9 *	91.5 \pm 24.7 *	90.2 \pm 24.1 *	89.5 \pm 24.9 *	88.8 \pm 23.5	90.8 \pm 25.2 *
MDI	101.2 \pm 27.4 *	97.4 \pm 27.5 *	95.9 \pm 24.3 *	91.8 \pm 27.5 *	88.5 \pm 27.2 *	87.8 \pm 29.5	83.8 \pm 29.9 *

*riduzione ns per ogni gruppo rispetto al tempo 0

Tabella 4: parametri metabolici

	Tempo (mesi)						
	0	6	12	18	24	30	36
HbA1c (%)							
CSII	8.2±1.0 *	8.0±0.9 *	8.0±0.9 *	8.1±1.1 *	7.9±0.8 *	8.1±1.0	8.0±1.1 *
MDI	8.4±1.5 *	8.3±1.3 *	8.3±1.2 *	8.1±1.4 *	8.2±1.4 *	8.1±1.6	7.8±1.2 *
Insulina basale (U/Kg/day)							
CSII	0.29±0.09*	0.32±0.10*	0.31±0.09*	0.31±0.09*	0.32±0.09*	0.33±0.11*	0.34±0.10*
MDI	0.31±0.17*	0.32±0.14*	0.33±0.16*	0.35±0.14*	0.31±0.16*	0.32±0.11*	0.33±0.11*
Insulina boli (U/Kg/day)							
CSII	0.20±0.07**	0.20±0.07**	0.19±0.08**	0.20±0.07**	0.21±0.08**	0.20±0.08**	0.19±0.08**
MDI	0.36±0.40**	0.36±0.20**	0.33±0.18**	0.36±0.17**	0.39±0.18**	0.32±0.11**	0.28±0.17**
Dosaggio giornaliero insulina (U/kg/day)							
CSII	0.50±0.11**	0.51±0.10**	0.51±0.09**	0.52±0.10**	0.53±0.11**	0.54±0.12**	0.53±0.13**
MDI	0.67±0.25**	0.68±0.30**	0.66±0.29**	0.72±0.27**	0.74±0.30**	0.65±0.19**	0.67±0.20**
BMI (Kg/m²)							
CSII	24.4±3.1 *	23.9±3.1*	24.3±3.2*	24.3±2.7*	24.1±2.9*	24.2±2.9*	24.9±3.3*
MDI	24.1±3.3 *	24.3±3.6*	24.9±3.6*	25.1±3.8*	24.8±3.9*	24.9±3.4*	24.8±3.5*
Colesterolo totale (mg/dl)							
CSII	191±30*	193±25*	184±26*	189±22*	186±20*	185±28*	185±18*
MDI	195±33*	199±46*	198±42*	190±34*	191±25*	172±22*	174±27*
Colesterol- HDL (mg/dl)							
CSII	64±15*	60±14*	61±14*	65±15	64±13*	66±15*	66±13*
MDI	60±15*	63±19*	62±20*	61±20	58±14*	61±16*	60±15*
Trigliceridi (mg/dl)							
CSII	77±27*	86±26*	61±14*	82±33	79±32*	74±34*	98±69*
MDI	106±99*	104±68*	62±20*	103±68	101±81*	76±31*	92±45*
8-iso-prostaglandina F2α urinaria(μg/24hr)							
CSII	6.6±9.7*	7.9±13.8*	6.1±12.5*	7.2±9.3*	8.8±18.7*	5.75±5.0*	7.8±10.4*
MDI	8.98±8.2*	9.28±14.3*	7.3±10.3*	9.1±14.1*	12.3±32.4*	5.2±10.2*	4.4±4.9*

* ns CSII vs MDI

**p < 0.01 CSII vs MDI

Tabella 5: controllo pressorio delle 24 ore

	Tempo (follow-up, mesi)						
	0	6	12	18	24	30	36
SBP							
(mmHg)							
CSII	120±9*	121±14*	120±10*	126±12*	119±26*	126±17*	127±13*
MDI	126±13*	126±12*	130±14*	129±17*	129±11*	131±16*	127±10*
SD_SBP							
(mmHg)							
CSII	15±5*	16±6*	15±4*	18±6*	18±8*	16±5*	17±6*
MDI	15±5*	17±6*	18±5*	19±9*	18±6*	18±7*	18±7*
DBP							
(mmHg)							
CSII	73±7*	74±6*	73±5*	75±7*	74±6*	75±8*	75±7*
MDI	75±7*	75±7*	77±8*	76±5*	76±7*	75±8*	74±4*
SD_DBP							
(mmHg)							
CSII	11±4*	13±6*	12±5*	76±5*	16±18*	12±5*	13±6*
MDI	12±5*	13±6*	13±5*	15±7*	15±8*	14±7*	14±5*
HR							
(bpm)							
CSII	80±8*	79±8*	80±8*	79±57*	80±8*	81±8*	80±7*
MDI	80±51*	81±10*	83±10*	83±9*	81±10*	79±7*	80±10*

* ns CSII vs MDI

Tabella 6: misure di variabilità glicemica

	Tempo (mesi)						
	0	6	12	18	24	30	36
ABG							
(mg/dl)							
CSII	151±24*	143±25*	150±30*	147±24*	153±18*	153±30*	151±32*
MDI	157±31*	160±34*	155±27*	151±27*	145±20*	156±19*	152±17*
SD							
(mg/dl)							
CSII	52±13*	53±15*	53±16*	51±14*	55±13*	53±20*	52±11*
MDI	55±16*	59±13*	58±14*	55±15*	47±16*	52±14*	55±18*
CV%							
CSII	34±6*	37±7*	35±8*	34±8*	36±7*	35±12*	34±6*
MDI	35±8*	37±9*	37±8*	35±8*	32±9*	33±8*	36±10*
CONGA1							
CSII	36±10*	38±11*	38±14*	35±9*	38±8*	36±9*	37±9*
MDI	37±12*	39±7*	42±10*	40±13*	35±8*	36±10*	40±15*
CONGA2							
CSII	54±15*	55±16*	55±22*	52±14*	57±13*	53±16*	54±14*
MDI	53±15*	58±13*	42±10*	60±17*	59±19*	50±14*	52±15*
CONGA4							
CSII	70±20*	70±23*	71±25*	67±18*	77±20*	68±20*	68±15*
MDI	69±22*	78±19*	79±16*	67±27*	65±25*	50±14*	72±30*
MODD							
CSII	55±37*	51±20*	63±27*	60±25*	71±38*	56±27*	60±23*
MDI	61±32*	59±24*	53±33*	60±14*	44±37*	53±23*	56±23*
HBGI							
CSII	6.0±3.6*	5.3±3.6*	6.5±4.9*	5.6±3.2*	6.4±2.7*	6.6±4.9*	6.4±5.1*
MDI	7.2±4.8*	7.9±5.1*	7.2±3.9*	6.2±3.6*	4.8±3.2*	6.3±3.3*	6.2±3.2*
LBGI							
CSII	1.1±1.0*	1.8±1.9*	1.3±1.1*	1.3±1.7*	1.3±1.4*	1.4±2.3*	1.1±1.0*
MDI	1.2±1.8*	2.0±2.6*	1.8±1.9*	1.3±1.6*	0.9±0.6*	0.7±0.6*	1.1±0.8*
BGRI							
CSII	7.0±3.2*	7.1±3.6*	7.8±4.7*	6.9±3.2*	7.6±2.7*	8.0±5.3*	7.5±4.9*
MDI	8.33±4.6*	9.0±3.3*	9.0±3.6*	7.6±3.2*	5.7±3.4*	7.0±3.3*	7.31±3.9*
BGRI_SD							
CSII	8.7±2.4*	8.1±3.0*	7.8±2.9*	8.1±2.2*	8.5±2.9*	8.0±4.5*	7.6±2.8*
MDI	8.5±3.7*	9.3±2.6*	8.9±2.5*	8.2±3.3*	6.8±3.2*	7.8±2.6*	8.5±3.6*
ADRR							
CSII	55±14*	55±20*	57±22*	53±18*	54±18*	54±20*	51±18*
MDI	54±17*	64±20*	64±14*	57±18*	50±17*	57±20*	59±26*
J-INDEX							
CSII	42±15*	40±16*	44±19*	41±13*	44±12*	45±21*	44±18*
MDI	46±20*	47±16*	47±17*	44±15*	38±13*	43±13*	44±14*
AUC							
CSII	756±121*	719±127*	763±155*	739±120*	767±94*	773±149*	764±158*
MDI	786±155*	775±142*	779±142*	753±133*	722±98*	778±93*	763±85*

* ns CSII vs MDI

Bibliografia

1. DCCT Research Group: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1993; 329: 977-986.
2. The Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) Study Sustained Effect of Intensive Treatment of Type 1 Diabetes Mellitus on Development and Progression of Diabetic Nephropathy *JAMA.* 2003; 290:2159-2167.
3. Feldt-Rasmussen B, Mathiesen ER, Deckert T. Effect of two years of strict metabolic control on progression of incipient nephropathy in insulin-dependent diabetes. *Lancet.* 1986 2:1300-4.
4. Feldt-Rasmussen B, Mathiesen ER, Jensen T, Lauritzen T, Deckert T. Effect of improved metabolic control on loss of kidney function in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients: an update of the Steno studies. *Diabetologia.* 1991; 3:164-70.
5. Dahl-Jorgensen K, Bjoro T, Kierulf P, Sandvik L, Bangstad HJ, Hanssen KF. Long-term glycemetic control and kidney function in insulin-dependent diabetes mellitus. *Kidney Int.* 1992;41:920-3.
6. Reichard P, Berglund B, Britz A, Cars I, Nilsson BY, Rosenqvist U. Intensified conventional insulin treatment retards the microvascular complications of insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM): the Stockholm Diabetes Intervention Study (SDIS) after 5 years. *J Intern Med.* 1991;230:101-8.
7. The Diabetes Control and Complications (DCCT) Research Group. Effect of intensive therapy on the development and progression of diabetic

- nephropathy in the Diabetes Control and Complications Trial. *Kidney Int.* 1995;47:1703-20.
8. Microalbuminuria Collaborative Study Group, United Kingdom. Intensive therapy and progression to clinical albuminuria in patients with insulin dependent diabetes mellitus and microalbuminuria. *BMJ.* 1995 ;311:973-7.
 9. M.Luiza A.Caramori MD, Jorge L. ross MD, Miriam Pecis MD, Mirela J. De Azevedo MD, G l o m e rular Filtration Rate, Urinary Albumin Excretion Rate, and Blood P r e s s u r e Changes in Norm o a l b u m i n u r i c N o r m o t e n s i v e Type 1 Diabetic Patients *Diabetes Care* 22:1512–1516, 1999.
 10. *N Engl J Med.* 2011 Dec 22;365(25):2366-76. doi: 10.1056/NEJMoal111732. Epub 2011 Nov 12. Intensive diabetes therapy and glomerular filtration rate in type 1 diabetes. DCCT/EDIC Research Group, de Boer IH, Sun W, Cleary PA, Lachin JM, Molitch ME, Steffes MW, Zinman B.
 11. Bangstad HJ, Osterby R, Dahl-Jorgensen K, Berg KJ, Hartmann A, Hanssen KF. Improvement of blood glucose control in IDDM patients retards the progression of morphological changes in early diabetic nephropathy. *Diabetologia.* 1994;37:483-90.
 12. Fioretto P, Steffes MW, Sutherland DE, Goetz FC, Mauer M. Reversal of lesions of diabetic nephropathy after pancreas transplantation. *N Engl J Med.* 1998;339:69-75.
 13. Hovind P, Tarnow L, Rossing P, Jensen BR, Graae M, Torp I, Binder C, Parving HH. Predictors for the development of microalbuminuria and macroalbuminuria in patients with type 1 diabetes: inception cohort study. *BMJ.* 2004;328:1105.

14. Misso ML, Egberts KJ, Page M, O'Connor D, Shaw J, Continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) versus multiple insulin injections for type I diabetes mellitus (Review). The Cochrane Library 2010, Issue.
15. American Diabetes Association. Continuous subcutaneous insulin infusion (Position statement). *Diabetes Care*. 2004 Jan;27 Suppl 1:S110.
16. Pickup J, Keen H. Continuous subcutaneous insulin infusion at 25 years: evidence base for the expanding use of insulin pump therapy in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2002; 25:593-8.
17. Pickup J, Keen H., Continuous subcutaneous insulin infusion at 25 years: evidence base for the expanding use of insulin pump therapy in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2002 Mar;25(3):593-8. Review.
18. Bode BW, Tamborlane WV, Davidson PC., Insulin pump therapy in the 21st century. Strategies for successful use in adults, adolescents, and children with diabetes. *Postgrad Med*. 2002 May;111(5):69-77; quiz 27. Review.
19. Bode BW, Steed RD, Davidson PC., Reduction in severe hypoglycemia with long-term continuous subcutaneous insulin infusion in type I diabetes. *Diabetes Care*. 1996 Apr;19(4):324-7.
20. Gabbe SG. New concepts and applications in the use of the insulin pump during pregnancy. *J Matern Fetal Med*. 2000 Jan-Feb;9(1):42-5. Review.
21. Ratner RE, Hirsch IB, Neifing JL, Garg SK, Mecca TE, Wilson CA. Less hypoglycemia with insulin glargine in intensive insulin therapy for type 1 diabetes. U.S. Study Group of Insulin Glargine in Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*. 2000;23:639-43.
22. Lepore G, Dodesini AR, Nosari I, Trevisan R. Both continuous subcutaneous insulin infusion and a multiple daily insulin injection regimen

- with glargine as basal insulin are equally better than traditional multiple daily insulin injection treatment. *Diabetes Care*. 2003;26:1321-2.
23. Lepore G, Dodesini AR, Nosari I, Trevisan R. Effect of continuous subcutaneous insulin infusion vs multiple daily insulin injection with glargine as basal insulin: an open parallel long-term study. *Diabetes Nutr Metab*. 2004;17:84-9.
24. The DCCT Research Group. The relationship of glycemic exposure to the risk of development and progression of retinopathy in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes* 1995; 44: 968-983.
25. Ceriello A, Ihnat MA. 'Glycaemic variability': a new therapeutic challenge in diabetes and the critical care setting. *Diabet Med* 2010; 27: 862–867.
26. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature* 2000; 404: 787–790.
27. Esposito K, Nappo F, Marfella R et al. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation* 2002; 106: 2067–2072.
28. Monnier L, Mas E, Ginet C, Michel F, Villon L, Cristol JP, Colette C. Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. *JAMA*. 2006;295:1681-7.
29. Hirsch IB, Brownlee M: Should minimal blood glucose variability become the gold standard of glycemic control? *J Diabetes Complications* 2005; 19:178 –181.
30. *Diabetologia*. 2010 Mar;53(3):562-71. doi: 10.1007/s00125-009-1574-6. Epub 2009 Nov 5. Regulation of oxidative stress by glycaemic control:

- evidence for an independent inhibitory effect of insulin therapy. Monnier L, Colette C, Mas E, Michel F, Cristol JP, Boegner C, Owens DR.
31. I. M. E. Wentholt & W. Kulik & R. P. J. Michels & J. B. L. Hoekstra & J. H. DeVries Glucose fluctuations and activation of oxidative stress in patients with type 1 diabetes *Diabetologia* (2008) 51:183–190.
 32. Ceriello A. Postprandial hyperglycemia and diabetes complications: is it time to treat? *Diabetes*. 2005;54:1-7.
 33. de Vegt F, Dekker JM, Ruhe` HG, Stehouwer CDA, Nijpels GBLM, Heine RJ: Hyperglycaemia is associated with all-cause and cardiovascular mortality in the Hoorn population: the Hoorn Study. *Diabetologia* 1999; 42:926–931.
 34. Donahue RP, Abbott RD, Reed DM, Yano K: Postchallenge glucose concentration and coronary heart disease in men of Japanese ancestry: Honolulu Heart Program. *Diabetes* 1987; 36:689–692.
 35. Lowe LP, Liu K, Greenland P, Metzger BE, Dyer AR, Stamler J: Diabetes, asymptomatic hyperglycemia, and 22-year mortality in black and white men: the Chicago Heart Association Detection Project in Industry study. *Diabetes Care* 1997; 20:163–169.
 36. The DECODE Study Group, the European Diabetes Epidemiology Group: Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. *Lancet* 1999; 354:617– 621.
 37. Chiasson JL, Josse RG, Gomis R, Hanefeld M, Karasik A, Laakso M, the STOP-NIDDM Trial Research Group: Acarbose treatment and the risk of cardiovascular disease and hypertension in patients with impaired glucose tolerance: the STOP-NIDDM trial. *JAMA* 2003; 290:486–494.

38. Hanefeld M, Chiasson JL, Koehler C, Henkel E, Schaper F, Temelkova-Kurktschiev T: Acarbose slows progression of intima-media thickness of the carotid arteries in subjects with impaired glucose tolerance. *Stroke* 2004; 35:1073–1078.
39. Esposito K, Giugliano D, Nappo F, Marfella R: Regression of carotid atherosclerosis by control of postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus. *Circulation* 2004; 29:2978 –2984.
40. Marfella R, Quagliaro L, Nappo F, Ceriello A, Giugliano D. Acute hyperglycemia induces an oxidative stress in healthy subjects. *J Clin Invest.* 2001 108:635-6.
41. Lurbe E, Redon J, Kesani A, Pascual JM, Tacons J, Alvarez V, Batlle D. Increase in nocturnal blood pressure and progression to microalbuminuria in type 1 diabetes. *N Engl J Med.* 2002;347:797-805.
42. *J Endocrinol Invest.* 2011 Feb;34(2):e24-9. doi: 10.3275/7240. Epub 2010 Aug 31. Alterations in arterial pressure in patients with Type 1 diabetes are associated with long-term poor metabolic control and a more atherogenic lipid profile. Vílchez-López FJ, Carral-Sanlaureano F, Coserria-Sánchez C, Nieto A, Jiménez S, Aguilar-Diosdado M.
43. Cryer PE, Davis SN, Shamoon H: Hypoglycemia in diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26: 1902–1912.
44. Murata GH, Shah JH, Hoffman RM, Wendel CS, Adam KD, Solvas PA, Bokhari SU, Duckworth WC: Intensified blood glucose monitoring improves glycemic control in stable, insulin-treated veterans with type 2 diabetes: the Diabetes Outcomes in Veterans Study (DOVES). *Diabetes Care* 2003; 26:1759–1763.

45. Schiffrin A, Belmonte M: Multiple daily self-glucose monitoring: its essential role in long-term glucose control in insulin-dependent diabetes mellitus treated with pump and multiple subcutaneous injections. *Diabetes Care* 5:479-484, 1982.
46. Evans JMM, Newton RW, Ruta DA, et al: Frequency of blood glucose monitoring in relation to diabetes control: observational study with diabetes database. *BMJ* 319:83-86, 1999
47. Bolli GB, Perriello G, Fanelli CG, De Feo P: Nocturnal blood glucose control in type I diabetes mellitus. *Diabetes Care* 16(Suppl 3):71-89, 1993
48. Renard E: Monitoring glycemic control: the importance of self-monitoring of blood glucose. *Am J Med* 118(Suppl 9A): 12S-19S, 2005.
49. Bode BW, Gross TM, Thornton KR, et al: Continuous glucose monitoring used to adjust diabetes therapy improved glycosylated hemoglobin: a pilot study. *Diabetes Res Clin Pract* 46:183-190, 1999.
50. Mastrototaro J: The MiniMed continuous glucose monitoring system (CGMS). *J Pediatr Endocrinol Metab* 12:751-758, 1999.
51. Bode B, Gross K, Rikalo N, et al: Alarms based on real-time sensor glucose values alert patients to hypo- and hyperglycemia: the guardian continuous monitoring system. *Diabetes Technol Ther* 6:105-113, 2004.
52. Feldman B, Brazg R, Schwartz S, et al: A continuous glucose sensor based on wired enzyme technology: results from a 3-day trial in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Technol Ther* 5:769-779, 2003.
53. Klonoff DC, Buckingham B, Christiansen JS, Montori VM, Tamborlane W, Vigersky R et al. Continuous glucose monitoring: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 2968–2979.

54. Klonoff DC: Continuous glucose monitoring: roadmap for 21st century diabetes therapy. *Diabetes Care* 2005; 28:1231–1239.
55. Garg SK, Schwartz S, Edelman SV: Improved glucose excursions using an implantable real-time continuous glucose sensor in adults with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27:734 –738.
56. Pickup JC, Freeman SC, Sutton AJ. Glycaemic control in type diabetes during real-time continuous glucose monitoring compared with self monitoring of blood glucose: meta-analysis of randomised controlled trials using individual patient data. *Br Med J* 2011; 343:d3805.
57. Lepore G, Corsi A, Dodesini AR, Nosari I, Trevisan R. Postprandial hyperglycemia is associated with an increase of blood pressure in type 1 diabetic patients treated with continuous subcutaneous insulin infusion. *Diabetes Care*. 2007 Jul;30(7):e60.
58. Lepore G, Bruttomesso D, Bonomo M, Dodesini AR, Costa S, Meneghini E, Corsi A, Nosari I, Trevisan R. Continuous subcutaneous insulin infusion is more effective than multiple daily insulin injections in preventing albumin excretion rate increase in Type 1 diabetic patients. *Diabet Med*. 2009 Jun;26(6):602-8.
59. Gaspari F, Perico N, Ruggenti P, Mosconi L, Amuchastegui CS, Guerini E, Daina E, Remuzzi G: Plasma clearance of nonradioactive iohexol as a measure of glomerular filtration rate. *J Am Soc Nephrol* 1995; 6:257–263.
60. Schwedhelm E, Bartling A, Lenzen H, Tsikas D, Maas R, Brummer J, Gutzki FM, Berger J, Frolich JC, Boger RH. Urinary 8-iso-prostaglandin F2alpha as a risk marker in patients with coronary heart disease: a matched case-control study. *Circulation*. 2004;109:843-8.

61. Perkins BA, Ficociello LH, Silva KH, Finkelstein DM, Warram JH, Krolewski AS. Regression of microalbuminuria in type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2003; 348: 2285–2293.
62. Araki S, Haneda M, Sugimoto T, Isono M, Isshiki K, Kashiwagi A et al. Factors associated with frequent remission of microalbuminuria in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2005; 54: 2983–2987.
63. Hovind P, Tarnow L, Rossing P, Jensen BR, Grae M, Torp I et al. Predictors for the development of microalbuminuria and macroalbuminuria in patients with type 1 diabetes: inception cohort study. *BMJ* 2004; 328: 1105.
64. Pickup J, Keen H. Continuous subcutaneous insulin infusion at 25 years: evidence base for the expanding use of insulin pump therapy in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2002; 25: 593–598.
65. Eitler K, Horvath K, Berghold A, Gratzner TW, Neeser K, Pieber TR et al. Continuous subcutaneous insulin infusion versus multiple daily insulin injections in patients with diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. *Diabetologia* 2008; 51: 941–951.
66. Matsushita K, van der Velde M, Astor BC, Woodward M, Levey AS, de Jong PE, Coresh J, Gansevoort RT. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium, Lancet*. 2010 Jun 12;375(9731):2073-81.
67. Zavaroni I, Coruzzi P, Bonini L, Mossini GL, Musiari L, Gasparini P, Fantuzzi M, Reaven GM. Association between salt sensitivity and insulin concentrations in patients with hypertension. *Am J Hypertens*. 1995 Aug;8(8):855-8.

68. Rocchini AP. The relationship of sodium sensitivity to insulin resistance. *Am J Med Sci.* 1994 Feb;307 Suppl 1:S75-80.
69. Bigazzi R, Bianchi S, Baldari D, Sgherri G, Baldari G, Campese VM. Microalbuminuria in salt-sensitive patients. A marker for renal and cardiovascular risk factors. *Hypertension.* 1994 Feb;23(2):195-9.
70. Bianchi S, Bigazzi R, Quiñones Galvan A, Muscelli E, Baldari G, Pecori N, Ciociaro D, Ferrannini E, Natali A. Insulin resistance in microalbuminuric hypertension. Sites and mechanisms. *Hypertension.* 1995 Nov;26(5):789-95.
71. Weir MR, Dengel DR, Behrens MT, Goldberg AP. Salt-induced increases in systolic blood pressure affect renal hemodynamics and proteinuria. *Hypertension.* 1995 Jun;25(6):1339-44.
72. Lepore G, Bruttomesso D, Bonomo M, Dodesini AR, Costa S, Meneghini E, Corsi A, Nosari I, Trevisan R. Continuous subcutaneous insulin infusion is more effective than multiple daily insulin injections in preventing albumin excretion rate increase in Type 1 diabetic patients. *Diabet Med.* 2009 Jun;26(6):602-8.
73. Anderson S, Vora JP. Current concepts of renal hemodynamics in diabetes. *J Diabetes Complications.* 1995 Oct-Dec;9(4):304-7.
74. Baron AD. Cardiovascular actions of insulin in humans. Implications for insulin sensitivity and vascular tone. *Baillieres Clin Endocrinol Metab.* 1993 Oct;7(4):961-87.
75. Feldman RD, Bierbrier GS. Insulin-mediated vasodilation: impairment with increased blood pressure and body mass. *Lancet.* 1993 Sep 18;342(8873):707-9
76. Elliott TG, Cockcroft JR, Groop PH, Viberti GC, Ritter JM. Inhibition of nitric oxide synthesis in forearm vasculature of insulin-dependent diabetic

- patients: blunted vasoconstriction in patients with microalbuminuria. *Clin Sci (Lond)*. 1993 Dec;85(6):687-93.
77. Ochodnický P, Henning RH, van Dokkum RP, de Zeeuw D. Microalbuminuria and endothelial dysfunction: emerging targets for primary prevention of end-organ damage. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2006;47 Suppl 2:S151-62; discussion S172-6.
78. Gaboury CL, Simonson DC, Seely EW, Hollenberg NK, Williams GH. Relation of pressor responsiveness to angiotensin II and insulin resistance in hypertension. *J Clin Invest*. 1994 Dec;94(6):2295-300
79. Yip J, Mattock M, Sethi M, Morocutti A, Viberti G. Insulin resistance in family members of insulin-dependent diabetic patients with microalbuminuria. *Lancet*. 1993 Feb 6;341(8841):369-70.
80. *J Am Soc Nephrol* 17:2010-2015, 2006.doi:10.1681/ASN.2006050517
81. e Cosmo S, Argiolas A, Miscio G, Thomas S, Piras GP, Trevisan R, Perin PC, Bacci S, Zucaro L, Margaglione M, Frittitta L, Pizzuti A, Tassi V, Viberti GC, Trischitta V. A PC-1 amino acid variant (K121Q) is associated with faster progression of renal disease in patients with type 1 diabetes and albuminuria. *Diabetes*. 2000 Mar;49(3):521-4.
82. Vaziri ND. Dyslipidemia of chronic renal failure: the nature, mechanisms, and potential consequences. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290: F262–F272.
83. Lepore G, Dodesini AR, Nosari I, Trevisan R. Effect of continuous subcutaneous insulin infusion vs multiple daily insulin injection with glargine as basal insulin: an open parallel long-term study. *Diabetes Nutr Metab* 2004; 17: 84–89.

84. Bruttomesso D, Crazzolara D, Maran A, Costa S, Dal Pos M, Girelli A, Lepore G, Aragona M, Iori E, Valentini U, Del Prato S, Tiengo A, Buhr A, Trevisan R, Baritussio A. In Type 1 diabetic patients with good glycaemic control, blood glucose variability is lower during continuous subcutaneous insulin infusion than during multiple daily injections with insulin glargine. *Diabet Med.* 2008 Mar;25(3):326-32.
85. Lepore G, Dodesini AR, Nosari I, Trevisan R. Both continuous subcutaneous insulin infusion and a multiple daily insulin injection regimen with glargine as basal insulin are equally better than traditional multiple daily insulin injection treatment. *Diabetes Care* 2003; 26: 1321–1322.
86. Bruttomesso D, Costa S, Baritussio A. Continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) 30 years later: still the best option for insulin therapy. *Int J Clin Pract.* 2008 Dec;62(12):1858-63.
87. Bragd J, von Döbeln A, Lins PE, Adamson U, Bergström J, Oskarsson P. Basal insulin substitution with glargine or continuous subcutaneous insulin infusion in adult type 1 diabetes patients—a randomized controlled trial. *Diabetes Technol Ther.* 2010 Sep;12(9):689-93.
88. Cavalot F. Do data in the literature indicate that glycaemic variability is a clinical problem? Glycaemic variability and vascular complications of diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 2013 Sep;15 Suppl 2:3-8
89. Bragd J, Adamson U, Backlund LB, Lins PE, Moberg E, Oskarsson P. Can glycaemic variability, as calculated from blood glucose self-monitoring, predict the development of complications in type 1 diabetes over a decade? *Diabetes Metab* 2008; 34: 612–616.

90. Wade' n J, Forsblom C, Thorn LM et al. A1C variability predicts incident cardiovascular events, microalbuminuria, and overt diabetic nephropathy in patients with type 1 diabetes. *Diabetes* 2009; 58: 2649–2655.
91. Lachin JM, Genuth S, Nathan DM, Zinman B, Rutledge BN, DCCT/EDIC Research Group. Effect of glycemc exposure on the risk of microvascular complications in the Diabetes Control and Complications Trial—revisited. *Diabetes* 2008; 57: 995–1001.
92. Lachin JM, Genuth S, Nathan DM, Zinman B, Rutledge N, for theDCCT / EDIC Research Group. Effect of glycemc exposure on the risk of microvascular complications in the Diabetes Control and Complications Trial—Revisited. *Diabetes* 2008; 57: 995–1001.
93. Kilpatrick ES, Rigby AS, Atkin SL. The effect of glucose variability on the risk of microvascular complications in type 1 diabetes.*Diabetes Care* 2006; 29: 1707–1709.
94. Service FJ, O'Brien PC. The relation of glycaemia to the risk of development and progression of retinopathy in the Diabetic Control and Complications Trial. *Diabetologia* 2001; 44: 1215–1220.