

GENETIC ASPECTS IN TYPE 1 DIABETES MELLITUS

Zara Radu

Student, anul VI, facultatea Medicină nr. 1,
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova

Abstract

Type 1 diabetes mellitus is currently considered to be an autoimmune condition with a multifactorial etiology, caused by a complex interaction of several genetic, epigenetic, and environmental factors, resulting in the progressive destruction of beta-pancreatic cells (those that synthesize insulin) and finally, the absolute endogenous insulin deficiency. About 5-10% of all patients with diabetes, have type 1 diabetes. Type 1 diabetes is immune mediated in over 90% of cases and can occur in any age group, but is most common in children and young adults also has a high degree of high concordance among monozygotic twins (33 to 42%) and is strongly manifested in families (15% of cases of diabetes have family aggregation) with high risk for first grade relatives (6-7% family vs. 0.4% of the general population) with a

parental footprint (7-8% father-child vs. 2-4% mother-child), the risk between siblings being about 10 times higher than the risk in the general population. Genetic studies of type 1 diabetes have revealed a key contribution of the human leukocyte antigen (HLA) region to the susceptibility of type 1 diabetes, family approaches and the study of candidate genes found five more loci associated with type 1 diabetes, and genome-wide association studies (GWAS) increased the number of loci to over 60. Identification and study of the action of susceptibility genes for diabetes type 1 could highlight the early detection of prediabetes and uncomplicated forms but also the development of new targets and therapeutic strategies and the development of a personalized treatment plan.

Key words: type 1 diabetes mellitus, genes, risk, genetic susceptibility

ASPECTE GENETICE ÎN DIABETUL ZAHARAT DE TIP 1

Rezumat

Diabetul zaharat (DZ) de tip 1 este considerat la ora actuală ca o afecțiune autoimună cu etiologie multifactorială, produsă de o interacțiune complexă a mai multor factori genetici, epigenetici și de mediu, a căror consecință este distrucția progresivă a celulelor beta-pancreatice (cele care sintetizează insulina) și în final, deficitul absolut de insulină endogenă. Aproximativ 5-10% din toți pacienții cu diabet au diabet zaharat de tip 1. DZ de tip 1 este mediat imun în peste

90% din cazuri și poate apărea la orice grupă de vârstă, dar este cel mai frecvent la copii și adulți tineri, de asemenea are un grad ridicat de concordanță ridicată în rândul gemenilor monoziگوٹی (33 până la 42%) și se manifestă puternic în familii (15% din cazurile de DZ prezintă agregare familială) cu risc mare pentru rudele de gr I (6-7% familie vs 0,4% populația generală) cu o amprentă parentală (7-8% tată-copil vs 2-4% mamă-copil), riscul între frați fiind de aproximativ 10 ori mai mare decât riscul în populația generală.

* **Corresponding Author:** Radu Zara, Student, anul VI, facultatea Medicină nr. 1, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova, email: zara.radu00@gmail.com

Article received: 20.04.2022, Article accepted: 26.05.2022, Article published: 14.06.2022

Cite: Zara R. Genetic aspects in type 1 diabetes mellitus. The Journal of School and University Medicine. 2022;9(2): 28-33

Studiile geneticii DZ de tip 1 au dezvăluit contribuția cheie a regiunii antigenului leucocitar uman (HLA) la susceptibilitatea DZ de tip 1, abordările de familie și studiul genelor candidate au descoperit încă cinci loci asociați cu DZ de tip 1, iar studiile de asociere la nivelul genomului (GWAS) a crescut numărul de loci la peste 60. Identificarea și studiul acțiunii genelor de susceptibilitate pentru DZ de tip 1 ar putea să pună în evidență depistarea precoce a prediabetului și formelor necomplicate dar și elaborarea unor noi ținte și strategii terapeutice și elaborarea unui plan de tratament personalizat.

Cuvinte cheie: diabet zaharat de tip 1, gene, risc, susceptibilitate genetică

Introducere

Diabetul zaharat este un sindrom complex și eterogen, care induce modificări profunde în metabolismul glucidic, proteic, lipidic, echilibrul ionic și mineral, ce stau la baza apariției unui spectru larg de complicații cronice, care afectează mai mult sau mai puțin toate țesuturile. De-a lungul anilor, prevalența diabetului zaharat a crescut la nivel global și este clasificată drept una dintre principalele cauze de morbiditate și mortalitate ridicată și cea mai frecventă cauză a dializei. După Organizația Mondială a Sănătății (OMS) diabetul zaharat se clasifică în DZ tipul 1, atât formele autoimune, cât și neautoimune cu distrugere a celulelor beta, DZ tipul 2 cu grad diferit de rezistență la insulină și hiposecreție de insulină, și un grup aparte numit alte tipuri specifice de DZ, unde cauza este mai bine definită, și DZ gestațional. [1]

Diabetul zaharat de tip 1 reprezintă circa 5-10% din toate cazurile de diabet, [2] acesta reprezintă rezultatul distrugerii autoimune a celulelor beta pancreatice ale organismului, care produc hormonul de insulină. Fără hormonul de insulină, organismul nu poate regla controlul glicemiei. [3] DZ tip 1 rezultă din interacțiuni complexe ale factorilor genetici și de mediu, probabilitatea apariției DZ la o persoană, este condiționată în mare măsură de factorul genetic (heritabilitatea - 20% - 60%). [4] Existența predispoziției genetice în DZ determină posibilitatea și necesitatea efectuării screening-ului direcționat pentru determinarea grupurilor de risc, depistarea precoce a prediabetului și formelor necomplicate de diabet, inițierea unor tratamente personalizate, prevenirea complicațiilor.

Obiective

- Definirea, clasificarea și caracteristica DZ
- Stabilirea rolului factorilor genetici, epigenetici în etiologia și patogenia DZ tip 1
- Identificare genelor majore responsabile de apariția DZ tip 1
- Studierea și analiza impactului genomului în apariția, manifestarea și managementul pacientului cu DZ tip 1

Metodologia de lucru a inclus analiza și sinteza literaturii, din surse precum PubMed, Wiley online library, Semantic Scholar, Ghiduri/protocoale naționale și internaționale, iar etapele de cercetare au fost, după cum urmează:

1. Definirea problemei;
2. Stabilirea criteriilor de includere a unor studii de meta-analiză;
3. Identificare studiilor;
4. Studierea și analiza publicației;
5. Extracția informației;
6. Sistematizarea publicației, anul, sursa, metoda de cercetare, rezultatele, concluziile;
7. Includerea în cercetare a informației și sinteza rezultatelor obținute.

Susceptibilitatea genetică a DZ de tip 1

Componenta genetică în DZ tip 1 este puternică, riscul mediu de prevalență este de 0,4% pentru copiii fără antecedente familiale de DZ tip 1, dar ~6-7% atunci când unul dintre părinți are DZ tip 1 și >30% atunci când ambii părinți sunt afectați. Există, de asemenea, o mare diferență în ceea ce privește ratele de concordanță între gemenii dizigoți (7-11%) și cei monoziigoți (33-42%). Este interesant faptul că, riscul de moștenire a DZ tip 1 diferă în funcție de părintele care este afectat, cu aproximativ risc dublu dacă se moștenește de la tată (7-8%) decât de la mamă (2-4%), iar riscul între frați fiind de aproximativ 10 ori mai mare decât riscul în populația generală. [4]

Gene responsabile de apariția DZ tip 1

Riscul DZ de tip 1 este puternic influențat de multipli loci genici, însă această predispoziție genetică la distrugerea autoimună a celulelor beta este, de asemenea, legată de factorii de mediu care sunt încă slab definiți. Acest tip de DZ este puternic influențat

anume de genele care controlează sistemul imunitar plus, mulți alți loci de predispoziție, care interacționează între ei și care au o anumită influență asupra susceptibilității la DZ [1].

Studiile geneticii DZ de tip 1 au început în anii 1970 și au dezvăluit contribuția cheie a regiunii antigenului leucocitar uman (HLA) la susceptibilitatea DZ de tip 1 [5]. Gena HLA codifică complexul major de histocompatibilitate (MHC) la om, aceasta fiind și responsabilă pentru până la 50% din riscul genetic de DZ tip 1. Moleculile HLA sunt proteine de suprafață celulară care se leagă și prezintă antigene peptidice la limfocitele T. HLA este clasificat în două clase (I și II). Moleculile din clasa I (A, B și C) constau dintr-un lanț polipeptidic care formează un heterodimer cu β -2 microglobulina care nu este codificată de complexul HLA. Moleculile din clasa II (DR, DQ și DP) constau dintr-un heterodimer creat din două polipeptide (α și β). Moleculile de clasă I prezintă peptide din interiorul celulelor și activează celulele T citotoxice, în timp ce moleculele de clasă II prezintă antigeni extracelulari celulelor T-helper care stimulează celulele B să producă anticorpi. Legarea peptidelor și, prin urmare, prezentarea antigenului, este determinată de forma și sarcinile electrice ale șanțului de legare a peptidelor și de capacitatea receptorului celulelor T de a se lega de complexul HLA-peptidă. [4]

Regiunea HLA prezintă un dezechilibru de legătură puternic, astfel încât, în cadrul unei populații, alelele individuale se găsesc, de obicei, doar în una sau câteva combinații de haplotipuri. Cel mai mare risc de DZ tip 1 este atribuit locilor de clasa II HLA-DR3-DQ2 și HLADR4-DQ8. Aproape 90% dintre copiii diagnosticați cu DZ tip 1 în Scandinavia au fie haplotipurile HLA-DR3-DQ2, fie HLA-DR4-DQ8. Asocierea dintre HLA și diabet pare să fie legată de riscul de a dezvolta primul autoanticorp, astfel încât copiii homozigoți pentru HLA-DR3-DQ2 au mai multe șanse de a avea anticorpi GADA (Anticorpi anti-decarboxilaza acidului glutamic) ca prim anticorp, iar copiii cu haplotip HLA-DR4-DQ8 au mai multe șanse de a avea mai întâi autoanticorpii de insulină. [6]

Alte haplotipuri de clasa II au fost, de asemenea, asociate cu riscul de DZ tip 1 cu efecte mai mici, de exemplu, locusul DPB1 este asociat atât cu protecția (DPB1*04:02), cât și cu susceptibilitatea (DPB1*03:01 și DPB1*02:02) față de DZ tip 1. [7] Alelele de risc HLA diferă, de asemenea, între populații. Haplotipul HLA-DR7 care include DRB1*07:01

este protector în populația europeană, dar conferă risc la africani. În mod similar, un haplotip DR3 specific african (DRB1*03:02-DQA1*04:01-DQB1*04:02) protejează împotriva DZ tip 1. [4] Cu toate acestea, mecanismele biologice exacte prin care alelele genelor care codifică HLA contribuie la riscul de DZ de tip 1 rămân evazive. De fapt, regiunea HLA este cea mai polimorfă secțiune a genomului uman, cu 22.362 de alele unice [5].

Abordările de familie și studiul genelor candidate au descoperit încă cinci loci care pot fi asociați cu DZ de tip 1. În 1984, gena insulinei (INS) a fost identificată ca al doilea locus asociat cu DZ de tip 1. [5] Gena insulinei (INS) este primul și cel mai puternic locus non-HLA cu un OR 2,4 (Odds Ratio). S-a constatat că regiunea promotorului are un număr variabil de repetări (VNTR) care marchează alele cu expresie diferită a genei INS, despre care se presupune că afectează susceptibilitatea prin modularea expresiei timice a insulinei și prin afectarea educației celulelor T. Locii de susceptibilitate în regiunile CTLA4, PTPN22 și IL2RA au fost identificați în studiile privind genele candidate. [4]

În 1996 a fost descoperită gena cytotoxic T-associated protein 4 (CTLA4) și a fost recunoscută ca al treilea locus. Un alt studiu caz-control din 2004 a raportat că proteina tirozin fosfatază, gena non-receptor de tip 22 (PTPN22) este asociată cu susceptibilitatea la DZ de tip 1, iar în 2005 sa raportat gena receptorului interleukinei 2 alfa (IL2RA) ca al cincilea locus asociat cu DZ de tip 1, al șaselea candidat fiind gena domeniului 1 helicaza C indusă de interferon (IFIH1). [5]

Începând din 2007, Studiile de asociere la nivelul genomului (GWAS) a crescut dramatic numărul de loci asociați cu DZ de tip 1 la peste 60, așa cum este prezentat în Figura 1. Acești loci găzduiesc multe gene noi despre care nu se credea anterior că sunt candidați evidenți pentru susceptibilitatea DZ de tip 1 înainte de era GWAS. [5] Acești loci explică ~80% din ereditabilitatea în sens restrâns a DZ de tip 1. Unul dintre cele mai mari eforturi a fost cel al Consorțiului de genetică a diabetului de tip 1 (T1DGC), o colaborare internațională prin care au fost colectate și genotipate >14.000 de probe. Dintre locii identificați, doar PTPN22 și IL2RA au OR mai mare de 1,5; majoritatea sunt în intervalul 1,1-1,3, subliniind importanța regiunii HLA cu un OR de 2,4. [4]

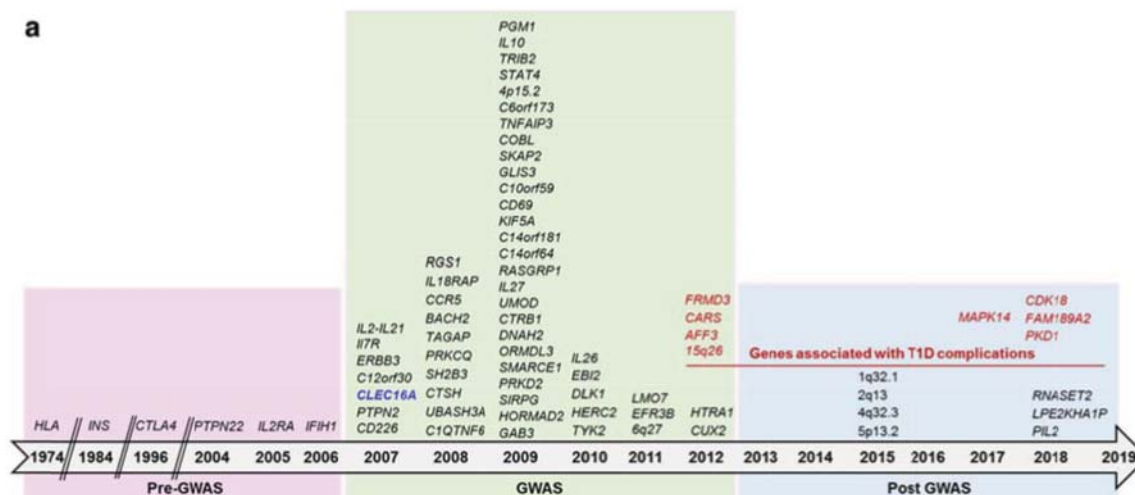


Figura 1. Locusuri de susceptibilitate la diabetul de tip 1 (DZ de tip 1). Cronologia descoperirii: locii sunt prezentați după anul când au fost asociați pentru prima dată în DZ de tip 1. Genele prezentate în roșu sunt asociate cu complicații specifice DZ de tip 1. [5].

Recunoașterea unui antigen specific și a HLA de către receptorul de celule T poate avea ca rezultat un atac autoimun, care ar putea fi potențat și mai mult de variantele genice care afectează prezentarea antigenului sau semnalizarea celulelor T. Cunoașterea funcțională a rolului locilor de susceptibilitate la DZ de tip 1 a arătat că multe gene candidate sunt implicate în funcții legate de răspunsul imunitar adaptativ mediat de celulele T și de mecanismele de toleranță, precum și de imunitatea înăscută implicată în recunoașterea antigenelor celulelor β . Multe asocieri genetice sunt, de asemenea, împărtășite cu alte boli autoimune. De exemplu, o alelă comună de pierdere a funcției în lo-

cusul tirozin-fosfatazei PTPN22 scade riscul de boală Crohn, dar crește riscul de artrită reumatoidă și DZ de tip 1. Interesant este faptul că cel puțin 50% dintre genele candidate identificate, inclusiv CTRB1/2, IFIH1, GLIS3 și PTPN22, sunt, de asemenea, exprimate în celulele beta, susținând conceptul că susceptibilitatea genetică la DZ de tip 1 influențează atât sistemul imunitar, cât și funcția celulelor beta. Pentru majoritatea locilor post-GWAS încă rămân să fie realizate cartografierea fină și caracterizarea funcțională, [8] Însă o bună parte din genele asociate cu DZ de tip 1 sunt deja descifrate și este cunoscut mecanismul prin care poate duce la apariția acestei maladii (Tabelul 1).

Gena	Locus	Funcția genei
PTPN22	1p13.2	Reglarea răspunsului imunitar înăscut, a activării celulelor T și a proliferării celulelor natural killer
IL10	1q32.1	Citokine și răspunsul inflamator
AFF3	2q11.2	Reglarea transcripției
IFIH1	2q24.2	Activarea sistemului imunitar inert NF- κ B
STAT4	2q32.3	Calea de semnalizare mediată de citokine
CTLA4	2q33.2	Activarea celulelor T
CCR5	3p21.31	Dezvoltarea celulelor Th1 și calea de semnalizare mediată de chemokine
IL21, IL2	4q27	Citokine și răspunsul inflamator și celulele Th1 sau Th2 diferențiere
IL7R	5p13.2	Citotoxicitatea mediată de celulele T, producția de imunoglobulină și legarea antigenului
BACH2	6q15	Transcriere
TNFAIP3	6q23.3	Răspunsul inflamator
TAGAP	6q25.3	Transducția semnalului

Gena	Locus	Funcția genei
IKZF1	7p12.2	Reglarea celulelor imunitare
GLIS3	9p24.2	Reglarea transcripției
IL2RA	10p15.1	Splicing alternativ ARNm Splicing alternativ Diferențierea celulelor Th1 sau Th2
PRKCQ	10p15.1	Procesul apoptotic, răspunsul inflamator, răspunsul imunitar înăscut, și calea de semnalizare a receptorilor de celule T
NRP1	10p11.22	Transducția semnalului
INS	11p15.5	Calea de semnalizare a insulinei
BAD	11q13.1	Apoptoza
CD69	12p13.31	Transducția semnalului
ITGB7	12q13.13	Răspunsul la virus și reglarea răspunsului imunitar
ERBB3	12q13.2	Reglarea transcripției, a răspunsului imunitar înăscut și a lipidelor metabolismul lipidic
CYP27B1	12q14.1	Metabolismul lipidelor, al lipoproteinelor, al hormonilor steroizi și al vitaminei D
SH2B3	12q24.12	Transducția semnalului
GPR183	13q32.3	Răspunsul imunitar umoral
DLK1	14q32.2	Reglarea expresiei genice
RASGRP1	15q14	Răspunsul inflamator la stimulii antigenici și producția de citokine
CTSH	15q25.1	Calea de semnalizare de reglare a răspunsului imunitar Cito-toxicitate mediată de celulele T Răspuns imunitar adaptativ
CLEC16A	16p13.13	Necunoscut
IL27	16p11.2	Răspunsul inflamator și reglarea răspunsului de apărare împotriva virusurilor
ORMDL3	17q12	Legarea proteinelor
PTPN2	18p11.21	Semnalizarea citokinelor și diferențierea celulelor B și T
CD226	18q22.2	Imunoreglarea și sistemul imunitar adaptativ
TYK2	19p13.2	Cale de semnalizare mediată de citokine, semnal intracelular transducție și calea de semnalizare a interferonului de tip I
FUT2	19q13.33	Căi metabolice
UBASH3A	21q22.3	Reglarea producției de citokine, reglarea căii de semnalizare a receptorilor de celule T
C1QTNF6	22q12.3	Calea de semnalizare a receptorilor de celule B, calea de semnalizare a chemokinei și citotoxicitatea mediată de celulele natural killer

Tabelul 1: Gene candidate propuse ca fiind importante pentru patogeneza diabetului zaharat de tip 1. [9]

Mecanisme epigenetice

Multe procese implicate în DZ tip 1 ar putea fi influențate de mecanisme epigenetice, inclusiv dezvoltarea, metabolismul și regenerarea celulelor beta. Răspunsurile imunitare, inclusiv activarea celulelor T și inducerea celulelor T reglatoare, se bazează pe reglarea epigenetică. S-a demonstrat că structura a patru situsuri CpG(5'—C—fosfat—G—3') proximale față de situsul de început al transcripției genei INS diferă între pacienții cu DZ tip 1 și cei de control, trei situsuri fiind mai puțin metilate și unul mai metilat.

[10] În mod similar, situsurile CpG din promotorul IL2 au fost mai dens metilate la pacienții cu DZ tip 1 decât la grupul de control.

Modificările histonice pot fi, de asemenea, relevante pentru DZ tip 1, De exemplu, studiile caz-control au evidențiat niveluri diferite de acetilare a histonei H4 sau de acetilare a H3K9(histonei H3) la pacienții cu DZ tip 1 în comparație cu grupul de control [11].

Un număr tot mai mare de observații sugerează că miARN-urile(micro ARN) pot contribui, de ase-

menea, la dezvoltarea DZ tip 1. Studiile experimentale pe modele animale și pe celule cultivate au furnizat dovezi convingătoare că miARN-urile pot participa la controlul autoimunității deteriorarea celulelor β , reglarea sintezei și secreției de insulină [12]. S-a demonstrat, de asemenea, că expresia unor miARN-uri specifice în sânge și în limfocite diferă între pacienții cu DZ tip 1 și controalele și că este corelată cu severitatea bolii. Prin urmare, măsurarea acestor miARN-uri poate fi utilă pentru identificarea persoanelor cu risc de a dezvolta DZ tip 1 și pentru prevenirea bolii [13].

Complicații

Diabetul de tip 1 este o afecțiune cronică care poate duce la numeroase complicații microvasculare și macrovasculare pe termen lung. Diabetul este o cauză principală a bolii renale în stadiu terminal, a orbirii, a amputării picioarelor și a picioarelor și a bolilor cardiovasculare. Incertitudinile privind cadrul patogenetic care stă la baza complicațiilor diabetice reprezintă un obstacol major în dezvoltarea unor modalități de tratament optimizate [14].

Referitor la apariția complicațiilor s-a demonstrat că controlul convențional al glicemiei, în comparație controlul intensiv al glicemiei, a fost asociat cu mai puține complicații microvasculare atât în cazul diabetului de tip 1, cât și în cazul diabetului de tip 2, precum și cu o scădere a complicațiilor coronariene. [15].

O mai bună cunoaștere a markerilor genetici de risc pentru aceste complicații va fi un instrument important în definirea mecanismelor patogenetice cheie și va contribui la generarea de ținte terapeutice. Chiar dacă au fost raportate gene asociate cu complicații diabetice specifice diabetului de tip 1, cum ar fi un control mai slab al diabetului sau o insuficiență insulinică mai severă, studiile și eșantioanele de dimensiuni reduse, precum și problemele legate de redefinirea fenotipurilor nu au înregistrat niciun progres semnificativ în ceea ce privește definirea susceptibilității genetice la complicații [9].

Concluzii

DZ tip 1 este produs de o deficiență absolută în secreția de insulină, ca rezultat al distrugerii celulelor beta insulare ale pancreasului, iar mecanismul principal este susceptibilitatea genetică la autoimu-

nitare sub acțiunea unor factori de mediu declanșatori. Rolul major al predispoziției genetice în DZ 1 este atribuit alelelor complexului MHC, genei INS, genelor PTPN2, IL2RA, CTLA4, UBASH3A, IFIH1 responsabile de răspunsul imun. Identificarea și studiul acțiunii genelor de susceptibilitate la DZ tip 1 pot contribui la predicția și prevenția bolii, de asemenea aceasta va permite prezervarea celulelor beta ramase nealterate, elaborarea unor noi ținte și strategii terapeutice, în stadiul preclinic al bolii, sau personalizarea intervențiilor în funcție de profilul lor genetic, blocarea progresiei spre DZ tip 1, prin stimularea activă la o toleranță asupra celulelor self, imunoterapie specifică sau regenerarea celulelor beta.

Bibliografie

1. Marklova E. Genetic aspects of diabetes mellitus. *Acta Medica (Hradec Kralove)*, 2001. **44**(1): p. 3-6.
2. Babeș AP. Ghid de management al diabetului zaharat, M. sănătății, Editor. 2021: Monitorul Oficial Nr. 997 bis din 19 octombrie 2021. p. 240.
3. Skyler JS, et al. Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis. *Diabetes*. 2017;**66**(2): 241-255.
4. Bonora E, DeFronzo R. Diabetes. *Epidemiology, Genetics, Pathogenesis, Diagnosis, Prevention, and Treatment*. 2018.
5. Bakay M, et al. The Genetic Contribution to Type 1 Diabetes. *Curr Diab Rep*. 2019;**19**(11):116.
6. Ilonen J, et al. Patterns of β -cell autoantibody appearance and genetic associations during the first years of life. *Diabetes*. 2013;**62**(10):3636-40.
7. Noble JA. Immunogenetics of type 1 diabetes: A comprehensive review. *J Autoimmun*. 2015;**64**:101-12.
8. Bergholdt R, et al. Identification of novel type 1 diabetes candidate genes by integrating genome-wide association data, protein-protein interactions, and human pancreatic islet gene expression. *Diabetes*. 2012;**61**(4):954-62.
9. Pociot F, Lernmark Å. Genetic risk factors for type 1 diabetes. *Lancet*. 2016;**387**(10035):2331-2339.
10. Fradin D, et al. Association of the CpG methylation pattern of the proximal insulin gene promoter with type 1 diabetes. *PLoS One*. 2012;**7**(5):e36278.
11. Miao F, et al. Profiles of epigenetic histone post-translational modifications at type 1 diabetes susceptible genes. *J Biol Chem*. 2012; **287**(20):16335-45.
12. Zheng YZ, Wang, and Z. Zhou, miRNAs: novel regulators of autoimmunity-mediated pancreatic β -cell destruction in type 1 diabetes. *Cell Mol Immunol*. 2017;**14**(6):488-496.
13. Zullo A, et al. Epigenetics and type 1 diabetes: mechanisms and translational applications. *Transl Res*. 2017;**185**:85-93.
14. Ahlqvist E, et al. The genetics of diabetic complications. *Nat Rev Nephrol*. 2015;**11**(5):277-87.
15. Insel RA, et al. Staging presymptomatic type 1 diabetes: a scientific statement of JDRF, the Endocrine Society, and the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2015;**38**(10):1964-74.