

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„VICTOR BABEȘ” DIN TIMIȘOARA**



TEZĂ DE ABILITARE

**CONTRIBUȚII LA PREDICȚIA DIABETULUI
ZAHARAT ȘI A COMPLICAȚIILOR SALE**

CONF. DR. ADRIAN VLAD

2019

Rezumat

Diabetul zaharat este o afecțiune severă, care, prin complicațiile sale cronice numeroase, duce la reducerea duratei de viață a pacienților și la alterarea calității acesteia. Prevenția sa reprezintă un vis încă netranspus în realitate. Dacă pentru tipul 2 s-au obținut unele rezultate, prevenția diabetului zaharat tip 1 este momentan iluzorie. În aceste condiții, depistarea precoce a complicațiilor, în vederea instituirii unor terapii menite să le stopeze progresia, reprezintă o necesitate practică.

Teza de abilitare reprezintă o sinteză a principalelor mele rezultate științifice în acest domeniu, din perioada 2007-2018, respectiv de după susținerea, în anul 2006, a tezei de doctorat.

Studiul epidemiologiei diabetului zaharat tip 1 este un subiect care continuă să suscite interes, dat fiind faptul că poate aduce informații utile pentru deslușirea etiopatogeniei bolii. Primele date la nivel național au început să existe din anul 1996, când a fost înființat Registrul Român de Diabet al Copilului, reînnoit, ulterior, anual.

Într-o analiză a evoluției incidenței diabetului zaharat tip 1 la copiii cu vârsta mai mică de 18 ani, efectuată pe un interval de 10 ani (2002-2011), am constatat o creștere a acesteia cu 50%, de la 6,2/100.000 în anul 2002 la 9,3/100.000 în anul 2011, într-un ritm anual mai mare decât cel înregistrat la nivel mondial. Creșterea a interesat toate grupele de vârstă, cu excepția copiilor mai mari de 15 ani, unde s-a consemnat o scădere, care poate fi reală sau poate semnifica o instalare a bolii la vârste mai tinere. Dacă această tendință se va menține, atunci vom asista la o dublare, la interval de 18 ani, a incidenței diabetului zaharat tip 1 la copiii cu vârsta sub 18 ani.

Într-o altă cercetare am urmărit tendințele evoluției în timp, precum și variabilitatea regională și cea sezonieră, a incidenței diabetului zaharat tip 1 la copiii cu vârsta cuprinsă între 0 și 14 ani, într-un interval de 20 de ani (1996-2015). Și în acest caz am evidențiat o creștere continuă a incidenței, cu o rată mai mare decât cea raportată în lume. Între diversele regiuni ale României au fost găsite deosebiri semnificative statistic. Incidența maximă a fost consemnată în Transilvania, aceasta fiind semnificativ mai mare în comparație cu Moldova și Muntenia. Prima explicație pentru aceste diferențe este dată de deosebirile privind compoziția etnică a acestor regiuni, populația de etnie maghiară și germană fiind mai numeroasă în Transilvania decât în restul țării. Cea de-a doua constă în diferențele dintre regiuni privind stilul de viață. Incidența maximă a fost înregistrată în luna ianuarie, iar cea minimă în iunie, subliniind importanța infecțiilor sezoniere de tip viral în declanșarea diabetului zaharat de tip 1.

Boala renală diabetică (nefropatia diabetică) are o prevalență ce crește în paralel cu cea a diabetului zaharat. Chiar și în condițiile unui tratament corespunzător, ea poate evolua până la stadiul de boală renală avansată.

Conform teoriei patogenezei bolii renale diabetice, complicația parcurge cinci stadii succesive, diagnosticul său fiind stabilit, în practică, cel mai devreme în stadiul al treilea (cel de „microalbuminurie”). Deși bine încheată, această teorie nu cuprinde multe cazuri de boală renală diabetică, care evoluează către insuficiență renală fără ca excreția urinară de albumină să fie crescută.

Mecanismul clasic care explică apariția albuminuriei se bazează pe creșterea permeabilității filtrului glomerular (teoria glomerulară). În ultimii ani se vehiculează tot mai mult o nouă teorie, cea tubulară, fundamentată pe constatarea că majoritatea albuminei filtrate este recuperată de celulele epiteliale tubulare proximale și excretată nemodificată în sângele capilarelor peritubulare. Albuminuria de valori nefrotice ar fi consecința malfuncției acestei căi de recuperare. În celulele tubulare, albumina nerecuperată (cantități mici) suferă un proces de degradare lizozomală înainte de a fi excretate urinar sub forma unor fragmente peptidice de dimensiuni mici. Disfuncția acestei căi determină albuminurie de valori nefritice.

Într-o serie de cercetări efectuate în ultimii ani am încercat să evidențiem implicarea tubului proximal în generarea nefropatiei diabetice, corelațiile existente între tubulopatie și disfuncția endotelială, precum și rolul produșilor finali de glicare avansată în acest proces.

Într-un studiu efectuat la pacienți cu diabet zaharat tip 2 și normoalbuminurie, am constatat concentrații urinare mai mari ale markerilor tubulari $\alpha 1$ -microglobulina și $\beta 2$ -microglobulina, în comparație cu subiecții sănătoși. Aceștia nu au corelat cu dimetil-arginina asimetrică sau cu indicii hemodinamici cerebrali. Rezultatele sugerează faptul că nefropatia diabetică precoce este legată de disfuncția tubului proximal și că rolul endoteliului nu este esențial în această etapă.

Într-un alt studiu, efectuat la pacienți cu diabet zaharat tip 2 și normo-, respectiv microalbuminurie, am găsit o corelație între disfuncția tubului proximal și biomarkerii podocitari nefrină și VEGF, chiar și în stadiul de normoalbuminurie, sugerând rolul potențial al tubului proximal în procesarea nefrinei și VEGF urinare în stadiile precoce ale nefropatiei diabetice, proces care ar putea fi legat de intervenția produșilor finali de glicare avansată.

Implicarea podocitului în geneza bolii renale diabetice a fost cercetată și într-un alt studiu, efectuat la pacienți cu normo-, micro- și macroalbuminurie. Am constatat prezența podocituriei, inclusiv în subgrupul de control (subiecți sănătoși), procentul cel mai mare fiind înregistrat la pacienții macroalbuminurici. Regresia logistică multivariată sugerează că

podociturgia evoluează în paralel cu disfuncția tubulară proximală, independent de albuminurie și de declinul funcției renale.

Într-un lot de pacienți cu diabet zaharat tip 2 am caracterizat profilul proteomic urinar cu ajutorul spectrometriei de masă. Am avansat ipoteza conform căreia modelele proteomice ale peptidelor glicate urinare sunt diferite la pacienții normoalbuminurici față de cei microalbuminurici și că ar putea exista o legătură între mărimea și gradul glicării peptidelor și magnitudinea disfuncției tubulare proximale.

Toate aceste cercetări aduc argumente privind validitatea teoriei tubulare și implicarea podocitului în producerea albuminuriei, la pacienți cu diabet zaharat tip 2. Este nevoie, însă, de studii suplimentare, de tip prospectiv, efectuate pe loturi mai mari de pacienți, care să valideze rezultate obținute în cercetările mai sus menționate.

Abstract

Diabetes mellitus is a severe condition that may generate chronic complications, determining the reduction of the patient's life span and quality of life. Its prevention is still a dream. While for type 2 some results have been obtained, the prevention of type 1 diabetes is currently illusory. Under these circumstances, the early detection of the complications, in order to recommend appropriate therapies to stop their progression, is a practical necessity.

This habilitation thesis is a synthesis of my main scientific results in this field, between the years 2007 and 2018, following the defense of my doctoral thesis in year 2006.

The study of the epidemiology of type 1 diabetes mellitus is a subject that continues to be of interest, since it can provide useful information for the clarification of the pathogenesis of the disease. The first data for Romania began to exist since 1996, when the Romanian Childhood Diabetes Registry was established. The registry was thereafter renewed annually.

In an analysis of the evolution of the incidence of type 1 diabetes in children under the age of 18, performed over a 10-year interval (2002-2011), we found an increase of 50%, from 6.2/100,000/year in 2002 to 9.3/100,000/year in 2011, with an annual rate higher than that reported by the international studies. The raise in the incidence interested all the age groups, except for the oldest children (over the age of 15 years), in whom there was a decrease (that may be real or may mean a shift toward a younger age at diagnosis). If this trend persists, then the incidence of type 1 diabetes in children aged under 18 years will double every 18 years.

In another paper we investigated the time trends, as well as the regional and seasonal variability of the incidence of type 1 diabetes in Romanian children aged 0 to 14 years, within a period of 20 years (1996-2015). Similarly, we have noted a continuous increase in the incidence, at a higher rate than in the world. Between the different regions of Romania there are important dissimilarities. The highest incidence was recorded in Transylvania, significantly higher compared to Moldavia and Muntenia. The first explanation for this variance is given by differences in the ethnic composition of these regions. In Transylvania, the Hungarian and German ethnic population is more numerous than in the rest of the country. The second one is provided by the differences regarding lifestyle between regions. The highest incidence was recorded in January and the lowest in June. This finding highlights the importance of seasonal viral infections as triggers for type 1 diabetes.

Diabetic kidney disease (or diabetic nephropathy) has a prevalence that increases in parallel with that of diabetes mellitus. Even if properly treated, the complication may evolve to end-stage kidney disease.

According to the pathogenesis of diabetic kidney disease, the complication runs over five consecutive stages. In clinical practice, its diagnosis is established usually not before the third stage (“microalbuminuria”). Although well structured, this theory cannot explain many cases of diabetic kidney disease that evolve towards renal failure without any evidence of increase in the urinary albumin excretion.

The classic mechanism that explains the occurrence of albuminuria is based on the increase in the permeability of the glomerular filter (the glomerular theory). In the past years, a new theory, the tubular one, has emerged, based on the finding that most of the filtered albumin is retrieved by the proximal tubular epithelial cells and excreted unaltered into the peritubular capillaries. Nephrotic albuminuria is the consequence of the malfunction of this retrieval pathway. In the tubular cells, small amounts of albumin undergo a lysosomal degradation process before being excreted in the urine in the form of small peptide fragments. The dysfunction of this degradation pathway causes albuminuria of nephritic values.

In several researches carried out in the past years, we have attempted to highlight the involvement of the proximal tubule in the genesis of diabetic nephropathy, the correlations between tubulopathy and endothelial dysfunction, and the role of advanced glycation end products in this process.

In a study performed in patients with type 2 diabetes and normoalbuminuria, we have found elevated urinary concentrations of the tubular markers α 1-microglobulin and β 2-microglobulin, as compared to healthy subjects. They did not correlate with asymmetric dimethylarginine or cerebral hemodynamic indices. These results suggest that early diabetic nephropathy is related to proximal tubule dysfunction and that the role of endothelium is not critical in this stage.

In another study, conducted in patients with type 2 diabetes having normo- and microalbuminuria, we found a correlation between the proximal tubule dysfunction and some podocyte biomarkers (nephrin and VEGF), even in the stage of normoalbuminuria, suggesting the potential role of the proximal tubule in processing urinary nephrin and VEGF in the early stages of diabetic nephropathy, a process that might be related to the intervention of advanced glycation end products.

The involvement of the podocytes in the pathogenesis of diabetic kidney disease was investigated in a research, conducted in patients with normo-, micro- and macroalbuminuria. We found the presence of podocytes in the urine of the patients, including those from the control group (healthy subjects), the maximum percentage being noted in the macroalbuminuric patients. The multivariate logistic regression analysis suggests that

podocyuria evolves in parallel with the proximal tubular dysfunction, independent of albuminuria and decline in renal function.

In a group of patients with type 2 diabetes, we characterized the proteomic profile of the urine by mass spectrometry. We have advanced the hypothesis that proteomic models of urinary glycosylated peptides are different in normoalbuminuric and microalbuminuric patients, and that there could be a correlation between the size and degree of peptide glycation and the magnitude of proximal tubular dysfunction.

All these investigations provide arguments regarding the validity of the tubular theory and the involvement of the podocyte in the occurrence of albuminuria in patients with type 2 diabetes mellitus. However, additional prospective studies, conducted on larger groups of patients, are needed in order to validate the results of our research.