

UNIVERSITATEA “ OVIDIUS” CONSTANȚA
ȘCOALA DOCTORALĂ A FACULTĂȚII DE MEDICINĂ
DOMENIUL DE DOCTORAT: ȘTIINȚE MEDICALE
DISCIPLINA: ANATOMIE PATOLOGICĂ

TEZĂ DE DOCTORAT

STUDIUL CLINIC ȘI MORFOLOGIC AL NEFROPATIILOR LA PACIENȚII CU DIABET ZAHARAT

REZUMAT

COORDONATOR ȘTIINȚIFIC :
PROF.UNIV.DR. AȘCHIE MARIANA

DOCTORAND:
NICODIM (CHIROIU) MIRELA-SIMONA

CONSTANȚA

2014

CUPRINS

PARTEA I - STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Lista abrevieri.....	1
Introducere.....	3
Capitol I – Boala renală diabetică.....	5
I.1 Definiție și clasificare.....	5
I.2 Etiopatogenia bolii renale diabetice	5
I.3 Aspecte clinice în boala renală diabetică.....	11
I.4 Aspecte histopatologice în boala renală diabetică.....	14
Bibliografie selectivă.....	22
Capitol II – Nefropatii nondiabetice la pacientul cu diabet zaharat	30
II.1 Nefropatii glomerulare.....	30
II.2 Nefropatii tubulointerstițiale.....	49
II.3 Leziuni vasculare renale.....	56
II.4 Leziuni renale secundare unor obstrucții ale tractului urinar.....	58
Bibliografie selectivă.....	60

PARTEA A II –A - CONTRIBUȚII PERSONALE

Capitolul III -Materialul clinic și metodele de investigație utilizate pentru elaborarea studiului.....	65
III.1 Considerații generale.....	65
III.2 Setul de investigații urmărite în studiu.....	66
III.3 Prelucrarea materialului histopatologic.....	66
III.4 Metodele de analiză statistică utilizate.....	74
III.5 Structura lotului de studiu.....	79
Bibliografie selectivă.....	97

Capitolul IV – Evaluarea pacienților din lotul studiat în raport cu aspectele clinice	99
IV.1 Distribuția lotului de studiu în raport cu parametrii urmăriți.....	99
IV. 2 Caracteristici clinice ale lotului studiat.....	104
IV.3 Caracteristici paraclinice ale lotului studiat.....	106
Bibliografie selectivă.....	110
 Capitolul V – Evaluarea pacienților din lotul studiat în raport cu aspectele anatomopatologice.....	 111
V.1 Aspecte generale	111
V.2. Aspecte morfologice ale cazurilor studiate.....	112
V.3 Prezentări ale unor cazuri studiate.....	135
V.4 Aspecte imunohistochimice și de imunofluorescență în cazurile studiate.....	152
Bibliografie selectivă.....	165
 Capitolul VI – Corelații anatomoclinice în lotul studiat.....	 169
VI. 1 Corelații anatomoclinice la pacienții cu boală renală diabetică.....	169
VI. 2. Corelații anatomoclinice la pacienții cu nefroangioscleroză.....	184
VI. 3 Corelații anatomoclinice la pacienții cu infarct renal.....	191
VI. 4 Discuții generale.....	195
Bibliografie selectivă.....	200
 Concluzii finale.....	 204
Bibliografie generală.....	207

LISTA DE ABREVIERI

ABC - complex avidină biotină
AGE – produși finali de glicozilare avansată
ANCA – anticorpi anticitoplasma polimorfonuclearelor neutrofile
ARN-m – acid ribonucleic mesager
ASLO – antistreptolizina O
AT1 – angiotensina 1
AVC- accident vascular cerebral
BPOC – bronhopneumopatie cronică obstructivă
CSMH - celulele stromale ale măduvei hematogene
CTGF- factorul de creștere al țesutului conjunctiv
DAB - diaminobenzidin
DCCT- The Diabetes Control and Complications Trial
DZ – diabet zaharat
EGF –factor de creștere epidermal
FGF-2- factorul de creștere fibroblastic 2
FSP1 - proteina specifică fibroblastică
GSFS - glomeruloscleroză focală și segmentară
HbA1c - hemoglobină glicată A1c
HDL – lipoproteine cu densitate crescută
HE – hematoxilin-eozina
HTA – hipertensiune arterială
HVS – hipertrofie ventriculară stângă
IHC – imunohistochimie
IDF- International Diabetes Federation
IGF-1 – factor de creștere insulin-like-1
Ig - imunoglobuline
IL – interleukina
IMA – infarct miocardic acut
IMC – indice de masă corporală

IPP2K - inositol pentakifosfat-2 kinaza
LEI – lamina elastică internă
KCNQ-1 - single-nucleotid al canalelor de potasiu voltaj-dependente
KIM-1 – molecula de injurie renală 1
LDL- lipoproteine cu densitate scăzută
LES - lupusul eritematos sistemic
MDRD – Modification of Diet in Renal Disease
NGAL - lipocalina neutrofil-gelatinază asociată
PAS – acid periodic Schiff
PBS – tampon fosfat salin
PCNA - proteină auxiliară ADN-polimerazei
RFG - rată de filtrare glomerulară
 α -SMA- actina mușchiului neted
STNH – sistemul de transport natriu-hidrogen
TBC - tuberculoză
TEM - transdiferențiere epiteliu-mezenchimală
TGF-beta – factorul de creștere și transformare beta
UKPDS – The United Kingdom Prospective Diabetes Study
VEGF- factorul de creștere vascular-endotelial
VSH – viteza de sedimentare a hematiilor
ZO-3 - zona occludens-3

CUVINTE-CHEIE: diabet zaharat, boală renală diabetică, nefroangioscleroză, nefropatie diabetică, infarct renal, nefropatii nondiabetice

INTRODUCERE

Boala renală diabetică este una dintre cele mai importante complicații cronice ale diabetului zaharat. Pacienții cu diabet zaharat, mai ales cei cu diabet zaharat de tip 2, pot prezenta însă și leziuni renale nondiabetice, unele favorizate de o serie de condiții specifice pentru mediul diabetic. Diagnosticul diferențial al bolii renale diabetice este uneori dificil de realizat necesitând, pe lângă datele clinice și paraclinice, și date anatomopatologice obținute prin efectuarea puncției biopsie renală sau retrospectiv, cu ocazia necropsiei. Corelarea acestor date poate duce la concluzii importante pentru practica medicală.

Acest studiu își propune să analizeze leziunile renale care apar la pacienții cu diabet zaharat și să evalueze dacă există corelații între acestea și datele clinice și paraclinice.

Studiul este retrospectiv și a fost efectuat pe un lot de 127 pacienți cu diabet zaharat care au decedat succesiv pe parcursul internării în Spitalului Clinic Județean de Urgență Constanța, în perioada 2006-2010 și cărora li s-a efectuat necropsie în cadrul Serviciului de Anatomie Patologică al aceleiași instituții. Datele anatomopatologice au fost analizate în raport cu date clinice și paraclinice colectate din fișele de dispensarizare ale pacienților cu diabet zaharat, urmărindu-se o perioadă de 5 ani anterior decesului.

Prima parte a lucrării analizează datele din literatura de specialitate, iar partea a doua este dedicată contribuțiilor personale. Teza cuprinde un număr total de 225 pagini, din care parte generală – 64 pagini, parte specială – 161 pagini și este ilustrată cu 20 tabele, 24 grafice și 54 imagini microscopice originale.

MATERIAL ȘI METODĂ

1. Setul de investigații urmărite în studiu

Studiul și-a propus urmărirea unor parametri clinici: sex, vârstă, antecedente heredocolaterale, tipul și vechimea diabetului zaharat, comorbidități, factori de risc asociați, tipul de terapie antidiabetică și pentru afecțiunile asociate. S-a încercat stabilirea

unor corelații cu date paraclinice (glicemie, hemoglobină glicată, lipide sangvine, uree, creatinină, eliminări urinare de albumină), precum și cu datele anatomopatologice.

Dintre datele paraclinice, corelația dintre evoluția afectării renale și eliminările urinare de albumină a fost demonstrată și descrisă de mult timp [1]. Examenele de laborator efectuate pentru screeningul albuminuriei la pacienții din lotul de studiu au fost, în ordinea frecvenței: examenul sumar de urină, raportul albumină/creatinină urinară din urina de dimineață și dozarea albuminuriei din urina nocturnă sau din urina de 24 ore.

Un alt aspect urmărit a fost asocierea diabetului zaharat cu obezitatea [2] și dislipidemiile, factori de risc suplimentari pentru apariția sau agravarea evoluției bolii renale la pacienții cu diabet zaharat. Printre factorii de risc independenți pentru dezvoltarea nefropatiei diabetice se mai numără, după unele studii [3] sexul masculin și statusul de fumător. În prezentul studiu au fost evaluați parametrii care erau cel mai constant înscrși în fișele de dispensarizare ale pacienților cu diabet zaharat.

2. Prelucrarea materialului histopatologic

Din piesele anatomopatologice provenind de la cei 127 pacienți din lotul studiat, în vederea obținerii preparatelor microscopice, s-au prelevat fragmente sugestive din parenchim și din leziunile renale evidente. Fragmentele recoltate au avut o suprafață de maximum 4-5 cm² și o grosime de 3-5 mm, pentru o prelucrare optimă, iar în continuare s-au efectuat operații succesive, necesare pentru obținerea unui preparat rezistent în timp.

În final, lamele au fost pregătite pentru examenul microscopic.

Examenul microscopic

În cadrul examenului microscopic, am urmărit două aspecte importante:

- 1) diagnosticul microscopic pe baza metodelor morfologice standard, utilizând colorațiile convenționale;
- 2) diagnosticul microscopic pe baza metodelor imunomorfologice, folosind anticorpi monoclonali.

1. Diagnosticul microscopic pe baza metodelor morfologice standard

În categoria colorațiilor convenționale am inclus atât colorații uzuale (Hemalaun-Eozină și van Gieson), cât și colorații speciale, menite să evidențieze cu o acuratețe superioară anumite componente ale țesutului conjunctiv (colorația tricromică Masson, colorația cu orceină), precum și integritatea membranelor bazale (metoda PAS) [4].

2) Diagnosticul microscopic pe baza metodelor imunomorfologice

Metodele imunohistochimice permit vizualizarea antigenelor tisulare/celulare, având o fidelitate superioară colorațiilor convenționale în stabilirea tipurilor tumorale și în identificarea anumitor țesuturi. Imunohistochimia se bazează pe o reacție antigen-anticorp, utilizând anticorpi monoclonali obținuți prin fuziunea unui plasmocit normal care produce un anticorp idiotipic și un plasmocit mortalizat dintr-un plasmocitom (tehnica hybridomului). Tehnica utilizată a fost metoda ABC (avidină- biotină complex) indirectă trisadială [5, 6].

Alături de determinări imunohistochimice, au fost efectuate câteva determinări imunofluorescente pentru evidențierea modificărilor glomerulare renale în cadrul diabetului zaharat.

Vizualizarea preparatelor histopatologice s-a efectuat cu ajutorul unui microscop de generație Nikon Eclipse E600, iar captarea imaginilor microscopice s-a realizat prin intermediul unui program computerizat – Lucia Net, dotat cu capacitatea de dimensionare a diferitelor structuri renale.

3. Metodele de analiză statistică utilizate

În studiul de față, pentru colectarea, analiza datelor și interpretarea rezultatelor am folosit o fișă tip, în care au fost incluși toți parametrii urmăriți.

Datele culese au fost introduse într-o bază de date electronică construită în programul Microsoft Access 2010, care ne-a permis accesul facil la informațiile stocate și transferul acestora în programul de analiză și interpretare statistică.

Graficele și calculele statistice au fost realizate cu programul MS Excel 2010 și MS Graph. Pentru comparație am folosit testele STUDENT și CHI^2 . Distribuția statistică pe diverși parametri în raport cu lotul a fost urmărită, calculându-se următorii indicatori ai tendinței centrale și dispersiei : media aritmetică, modul, mediana, abaterea medie pătratică sau deviația standard [7, 8].

La testele de comparare a mediilor am folosit următoarea interpretare a rezultatului p, al testului:

$p < 0.05$ – dependența semnificativă între cei doi factori

$p < 0.01$ – dependența înalt semnificativă

$p < 0.001$ – dependența extrem de semnificativă

$p > 0.05$ – dependența nesemnificativă între cei doi factori

Pentru confirmarea ipotezei nule am stabilit un $p > 0.05$. Pentru un $p < 0.05$ (sau $p < 0.01$) ipoteza nula este infirmată.

Dificultățile studiului au fost datorate caracterului său retrospectiv, care a permis urmărirea prelucrarea doar datele care existau în fișele de dispensarizare ale pacienților și în foile de observație de pe perioada internării. Au fost cazuri în care datele înscrise erau sumare și nu s-au putut stabili corelații cu toți parametrii doriți. Pe de altă parte, prin caracterul său retrospectiv și neintervențional, studiul furnizează date importante din practica medicală curentă și poate conduce la concluzii utile în vederea îmbunătățirii abordării terapeutice și dispensarizării pacienților cu diabet zaharat.

4. Structura lotului de studiu

Lotul de studiu a fost alcătuit din 127 pacienți cu diabet zaharat care au decedat succesiv în timpul internării în Spitalul Clinic Județean de Urgență Constanța, în perioada 2006-2010. Acestor pacienți li s-a efectuat necropsie în cadrul Serviciului de Anatomie Patologică. Au fost analizate fișele de urmărire ale pacienților din cadrul Centrului Antidiabetic Constanța, precum și foile de observație întocmite cu ocazia internării.

Lotul de studiu a fost analizat având în vedere distribuția pe sexe, grupe de vârstă, mediu urban/rural, tipul și vechimea diabetului zaharat, tipul de medicație antidiabetică, cauzele de deces și patologia asociată diabetului zaharat. Au fost corelate datele clinice și paraclinice din fișele de dispensarizare ale pacienților cu diabet zaharat cu datele anatomopatologice rezultate la necropsie.

Pacienții din lotul urmărit au avut vârste cuprinse între 33 și 88 ani, cu o vârstă medie de 66.72 ani. Niciun pacient nu a avut vârsta sub 20 ani, iar în grupul de vârstă cuprins între 20 și 40 de ani au fost doar 4 pacienți. Majoritatea pacienților au fost cei din grupul de vârstă cuprins între 60 și 80 ani. Structura lotului, cu o pondere crescută a pacienților vârstnici, permite o analiză mai bună a factorilor de risc multipli.

Distribuția pe sexe a pacienților din lotul studiat a fost următoarea: 69 femei (54.33%) și 58 bărbați (45.67%). La nivel mondial [9], distribuția pe sexe a cazurilor de diabet zaharat este relativ uniformă, cu o pondere ușor mai crescută la sexul masculin (185 milioane cazuri la bărbați versus 181 milioane cazuri la femei în 2011), dar lotul de

studiu este constituit preponderent din pacienți cu vârstă mai mare de 65 ani, iar speranța de viață este mai mare în rândul femeilor decât în cel al bărbaților.

Distribuția pacienților în funcție de mediul de proveniență a fost următoarea: 38 pacienți din mediul rural (29,92%) și 89 pacienți din mediul urban (70,08%).

EVALUAREA PACIENȚILOR DIN LOTUL STUDIAT ÎN RAPORT CU ASPECTELE CLINICE

1. Distribuția lotului de studiu în raport cu parametrii urmăriți

Distribuția pacienților în funcție de tipul de diabet zaharat a fost următoarea:

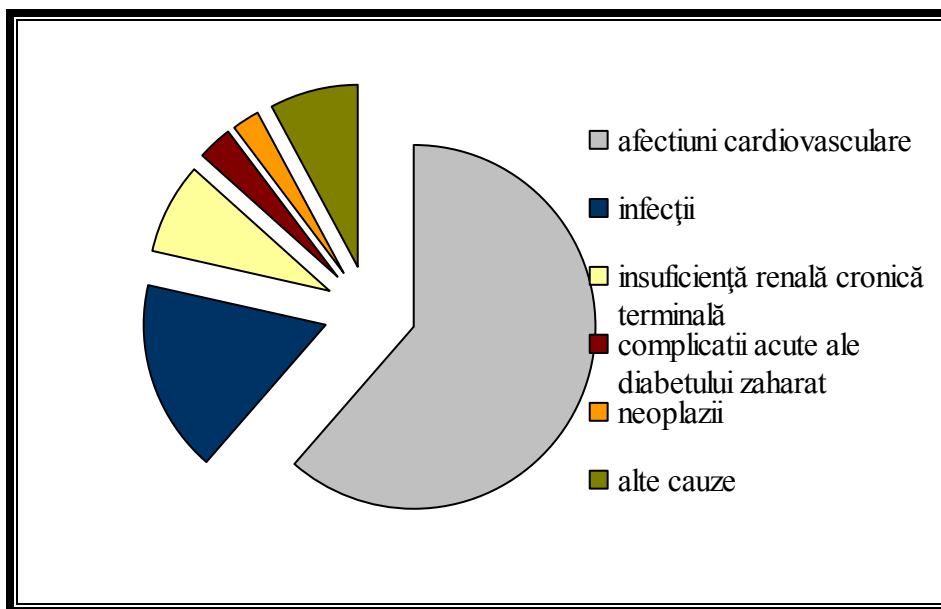
- diabet zaharat tip 1- 16 pacienți (12,6%)
- diabet zaharat tip 2- 108 pacienți (85.04 %)
- alte tipuri de diabet zaharat – 3 pacienți (2.36 %)

Distribuția pacienților în funcție de vechimea diabetului zaharat a fost următoarea: vechime sub 1 an - 17 pacienți (13.39%), vechime între 1 și 10 ani - 38 pacienți (29.92%), vechime între 10 și 20 ani - 53 pacienți (41.73%) și vechime peste 20 ani - 19 pacienți (14.96%). 72 de pacienți (56.69 %), au avut o vechime a diabetului peste 10 ani, durata reală de evoluție a bolii fiind probabil mult mai mare, lucru sugerat de prezența complicațiilor cronice ale diabetului zaharat.

Din totalul pacienților, 19 (14.96%) nu urmau nicio terapie antidiabetică anterior internării, 54 (42.52 %) urmau terapie antidiabetică orală, 25 (19.69%) urmau terapie combinată cu insulină și antidiabetice orale, iar 29 (22.83%) insulinoterapie. Pe parcursul internării, 108 pacienți au primit tratament insulinic, iar restul au rămas pe terapia antidiabetică orală anterioară.

Distribuția pacienților în funcție de cauzele de deces a fost următoarea: afecțiuni cardiovasculare - 78 pacienți (61,42%), cauze infecțioase - 22 pacienți (17,32%), insuficiență renală cronică terminală -10 pacienți (7,87%), complicații acute ale diabetului zaharat - 4 pacienți (3,15%), neoplazii – 3 pacienți (2,37%), alte cauze -10 pacienți (7,87%).

Principala cauză de deces a pacienților din lotul de studiu a fost reprezentată, așa cum era de așteptat de afecțiunile cardiovasculare (grafic 8).



Grafic 8 – Distribuția în funcție de cauzele de deces

2. Caracteristici clinice ale lotului studiat

În majoritatea cazurilor, patologia asociată diabetului zaharat a fost multiplă, mai ales la grupele de vârstă de peste 65 ani. Cele mai frecvente comorbidități au fost: hipertensiunea arterială (105 pacienți, reprezentând 82.7%) și cardiopatia ischemică cronică (78 pacienți, reprezentând 61.4%). Hipertensiunea arterială induce la nivel renal leziuni vasculare dificil de diferențiat de cele datorate vârstei înaintate [10]. Dintre leziunile histopatologice renale, hipertensiunea arterială se corelează caracteristic cu prezența nefroangiosclerozei.

Din lotul de studiu, 103 pacienți (81.10%) erau supraponderali sau obezi. Dintre aceștia, 34 (26.77%) erau supraponderali, 54 (42.52%) erau cu obezitate gradul unu, 11 (8.66%) cu obezitate gradul doi și 4 (3.15%) cu obezitate gradul trei.

3. Caracteristici paraclinice ale lotului studiat

Având în vedere că dintre cei 127 pacienți din lotul de studiu, 105 (82.7%) erau hipertensivi, iar la 78 (61.4%) din totalul de pacienți cauza decesului a fost un eveniment cardiovascular, s-a determinat frecvența cu care au fost efectuate investigații în scopul determinării calitative și cantitative a albumiuriei.

Un număr de 17 pacienți a avut o durată de evoluție a diabetului zaharat mai mică de 1 an. Dintre cei 110 pacienți cu durată a diabetului zaharat peste un an, evaluarea

albuminuriei în intervalul de 5 ani urmărit s-a efectuat la 101 pacienți (91.8%), realizându-se o frecvență de 0.6 determinări/pacient/an, respectiv o investigație la interval de 1.7 ani. În cazul pacienților diagnosticați cu boală renală diabetică, determinările albuminuriei s-au efectuat cu o frecvență mai mare, de 1.4 determinări/pacient/an, respectiv o determinare la interval de 0.7 ani .

Determinarea creatininei serice, care permite măsurarea ratei de filtrare glomerulară, pe baza formulei MDRD, s-a efectuat cu o frecvență de 0.47 determinări/pacient/an, respectiv o investigație la interval de 2.1 ani. La pacienții diagnosticați cu boală renală diabetică, s-au efectuat 1.2 determinări/pacient/an, respectiv o determinare a creatininei la interval de 0.8 ani. Determinarea valorilor acidului uric a fost efectuată cu frecvență redusă, care nu a permis stabilirea de corelații.

Frecvența dozării glicemiei a fost dificil de evaluat întrucât studiul este retrospectiv, iar un procent important de pacienți cu diabet zaharat își automonitorizau glicemia la domiciliu. Determinarea valorii HbA1c s-a efectuat cu o frecvență de 0.83 determinări/pacient/an, respectiv o determinare la interval de 1.2 ani.

Majoritatea pacienților au prezentat dislipidemie (113 pacienți din 127, reprezentând 88,98%), Asocierea diabetului zaharat cu excesul ponderal, dislipidemiile și hipertensiunea arterială explică ponderea mare a cauzelor cardiovasculare de deces în lotul studiat. Nu s-au putut obține, pentru un număr important de pacienți, date legate de nivelul HDL-colesterolului, datele din literatură [11] arătând o corelație între nivelul scăzut și apariția nefropatiei diabetice.

EVALUAREA PACIENȚILOR DIN LOTUL STUDIAT ÎN RAPORT CU ASPECTELE ANATOMOPATOLOGICE

1. Modificări histopatologice întâlnite în lotul studiat

Studiul microscopic al cazurilor a permis conturarea de variate modificări patologice la nivelul tuturor structurilor renale, clasificate astfel:

Leziuni glomerulare reprezentate de grade variate de glomerulită alterativă, proliferativă și/sau exudativă.

Leziuni tubulare: atrofia tubulară , tubii “endocrini, hipertrofia tubulară, dilatarea tubulară, modificări tubulare ischemice, cilindri tubulari.

Leziuni arteriale: Artere interlobare, arcuate și interlobulare cu fenomene de fibroză subendotelială, capilare peritubulare și vasa recta – comprimate de fibroza interstițială sau hiperemice.

Leziuni interstițiale: Fibroza - trăsătura comună a tuturor cazurilor și inflamația – dominantă s-a remarcat a fi inflamația cronică limfo-monocito-plasmocitară, difuză sau sub formă de agregate nodulare, uneori cu formarea de centri germinativi, similar foliculilor limfoizi.

2. Leziuni morfopatologice asociate cu diabetul zaharat și hipertensiunea arterială

Leziunile morfopatologice specifice pentru diabetul zaharat au fost pentru prima dată descrise de către Kimmelstiel și Wilson în 1936 (glomeruloscleroza diabetică Kimmestiel-Wilson) [12]. Din punct vedere morfologic, leziunile clasice evidențiate prin microscopie optică, în nefropatia diabetică sunt de mai multe tipuri [13]: leziuni difuze, leziuni nodulare, leziuni exudative, leziuni vasculare și tubulointerstițiale. În evoluția bolii apar modificări de scleroză nodulară și difuză.

În lotul studiat, leziunile renale evidențiate au fost diverse. Aspectul frecvent întâlnit a fost cel al unor leziuni nodulare uneori combinate cu microanevrisme capilare arteriolare, leziuni exudative sau hialinizări. Leziunile histopatologice au variat de la forme difuze de sclerozare a mezangiului până la scăderea matricei mezangiale și îngroșarea uniformă a peretelui capilar.

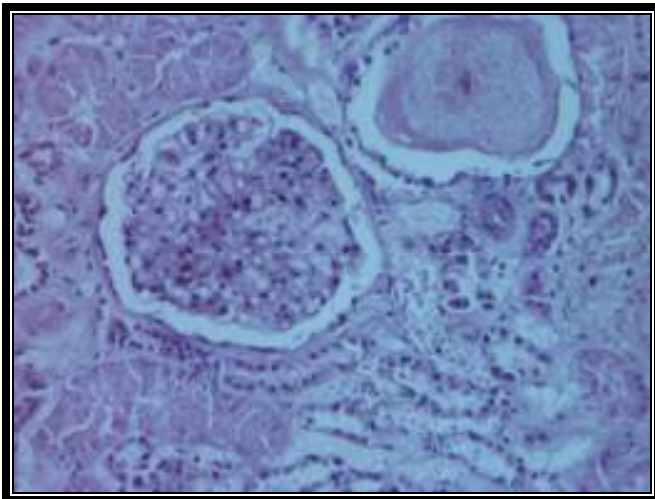


Figura 1. Glomeruloscleroză renală.

Glomerul renal hialinizat și un glomerul renal cu încărcare grasă. Tubii uriniferi periglomerulari cu fenomene de distrofie granulo-vacuolară (colorație H-E, x 100) (caz 7105/2007)

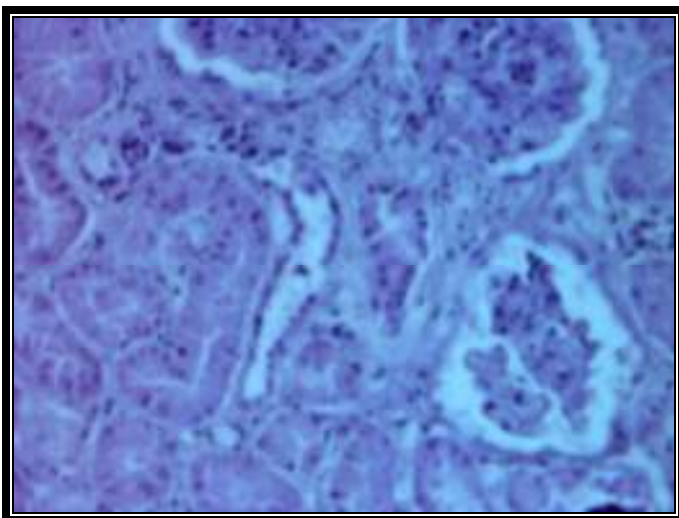


Figura 2. Glomerul renal fibrozat, sclero-atrofic, cu leziuni ischemice glomerulare. Tubii uriniferi din jur au fenomene de intumescență tulbure (distrofie granulo-vacuolară) (colorație H-E, x100) (caz 9123/2008)

Leziunile exudative hialine se întâlnesc mai frecvent în fazele mai avansate ale bolii și au diverse localizări [14]. În lotul studiat, leziunile de hialinoză arteriolară au fost frecvente, având în vedere și asocierea frecventă a hipertensiunii arteriale și dislipidemiilor, precum și vârsta medie avansată. Hialinoza arteriolară PAS-pozitivă a interesat atât arteriolele aferente cât și pe cele eferente, determinând uneori înlocuirea celulelor musculare din pereții arteriolari. La nivelul vaselor arteriolare s-a constatat, în unele cazuri, un grad pronunțat de îngroșare hialină a intimei și a mediei, cu proliferarea celulelor endoteliale, chiar în absența unor leziuni glomerulare semnificative.

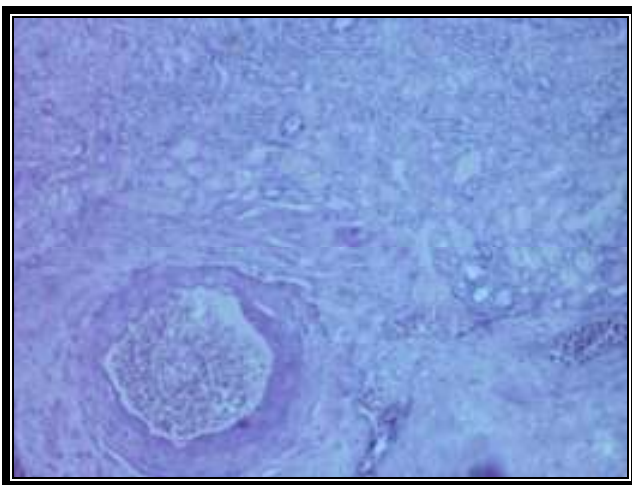


Figura 4. Vas renal hialinizat.
(hematoxilină-eozină , x 40) (caz 1599/2008)

Pe măsura agravării leziunilor glomerulare se asociază modificări tubulointerstițiale. Aspectele anatomopatologice întâlnite la nivel tubular au fost diverse de la tubi normali, la tubi atrofici sau glomeruli atubulari. Celulele epiteliale tubulare infiltrate cu glicogen pot prezenta, în colorații uzuale, aspectul de distrofie vacuolară.

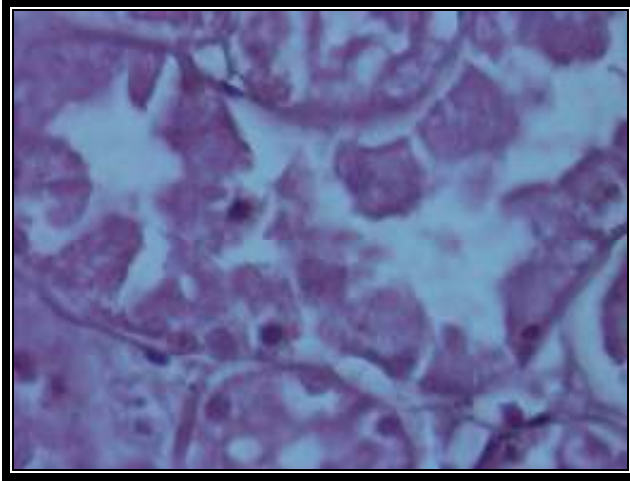


Figura 7. Tubi uriniferi cu intumescență clară și tulbure a epitelului intraluminal. (hematoxilină-eozină, x 400) (caz 7327/2010).

Glomerulii sunt sclerozați, fibrozați cu atrofia tubulilor adiacenți, scăderea mărimii celulelor endoteliale și micșorarea lumenului tubular. Membrana bazală tubulară poate fi îngroșată în funcție de gradul de atrofie tubulară.

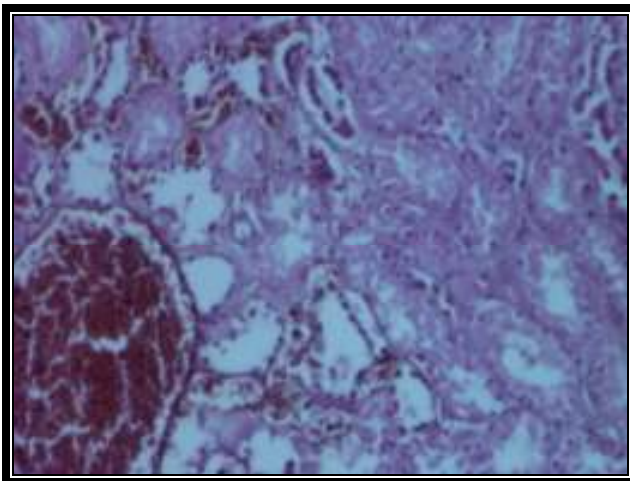


Figura 8. Aspecte de distrofie granulo-vacuolară renală asociată cu scleroză glomerulară și hiperemie arterială (hematoxilină eozină, x 100) (caz 2157/2009)

Vasele sangvine peritubulare suferă fenomene de arterioscleroză și arterioscleroză hialină, cu grade variate de îngroșare a intimei vasculare, manifestare

precocă și frecventă în boala renală a diabeticului, mai ales când se asociază hipertensiune arterială și vârstă înaintată [15].

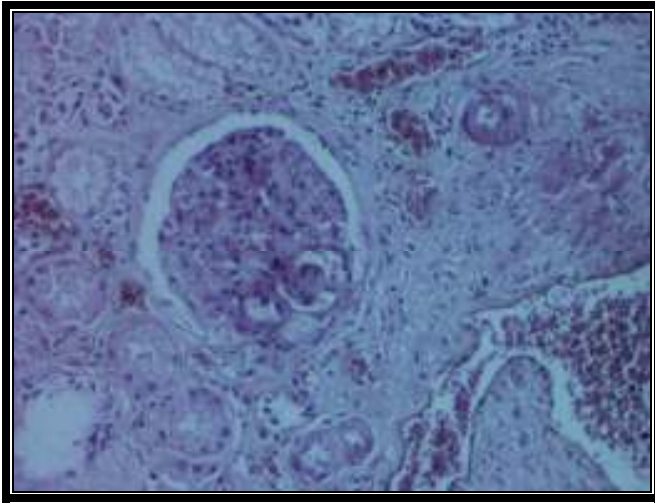


Figura 11. Asocierea leziunilor tubulo-glomerulare renale în diabetul zaharat: staza glomerulară, degenerescența hialină intraglomerulară, tubi uriniferi cu distrofie granulo-vacuolară, vase peritubulare unele hialinizate, altele hiperemiate (H-E, x 100)(1235/2009)

3. Staza renală cronică.

Staza renală cronică apare în cadrul hipertensiunii glomerulare, asociată hiperglicemiei și hipertensiunii arteriale persistente și necontrolate. Rinichiul mărit de volum se decapsulează cu ușurință la pacienții cu diabet zaharat nou diagnosticat [1], capsula renală fiind în tensiune. Microscopic primează leziuni glomerulare. Glomerulul renal apare mărit, cu vase glomerulare dilatate și pline cu hematii.

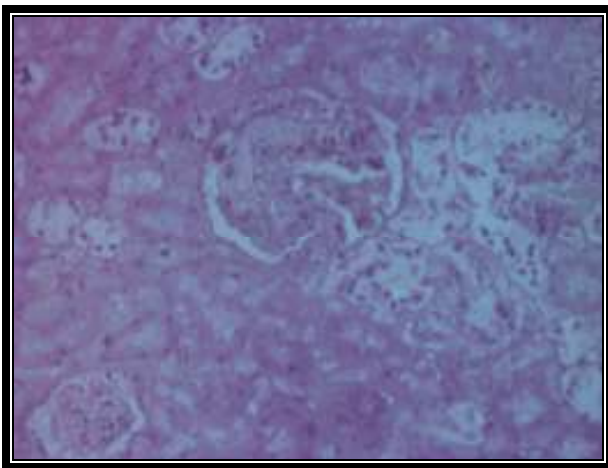


Figura 12. Staza renală cronică. Glomerulul renal dilatat, cu reducerea spațiului subcapsular. Tubi uriniferi periglomerulari aplatizați, turtiți. (H-E, x100) (caz 7105/2007)

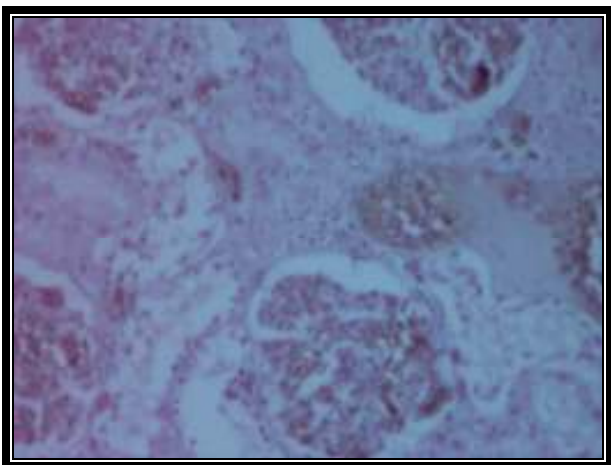


Figura 14. Stază renală cronică (glomeruli măriți, capilare dilatate, fenomene de fibroză intraglomerulară, hematii extravazate și pigment hemosiderinic) (HE, x 100) (caz 5154/2008)

Vasele arteriale și arteriolare peritubulare sunt dilatate, fenomenele de hiperemie fiind prezente și la nivel parenchimos renal. Aspectul caracteristic este reprezentat de glomeruli măriți, cu vase dilatate și fenomene de fibroză intraglomerulară. Staza renală cronică poate coexista cu leziuni de glomeruloscleroză și nefroangioscleroză, depuneri hialine endoteliale sau mezangiale și îngroșări ale membranei bazale glomerulare[16].

4. Infarctul renal.

În lotul studiat, 9 pacienți au prezentat aspecte caracteristice infarctului renal. Macroscopic, capsula renală supraiacentă este albicioasă, aderentă de suprafața rinichiului. Pe secțiune, leziunea este triunghiulară, cu vârf spre hil și baza spre corticală.

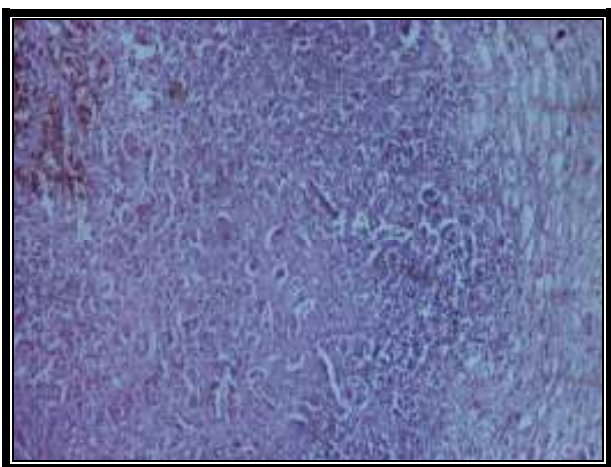


Figura 15. Infarct renal. Zonă de necroză ischemică, cu resturi de tubi uriniferi, glomeruli atrofiați, infiltrat inflamator leucocitar perinecrotic (HE x 40) (caz 7357/2006)

Microscopic se evidențiază material eozinofil format din resturi celulare, glomerulare și tubulare, iar la periferie se observă infiltrat inflamator leucocitar.

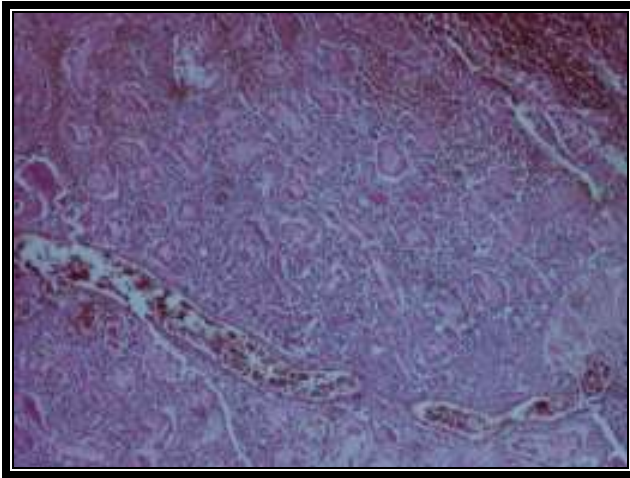


Figura 17. Zona de hiperemie arterială din jurul ariei de necroză ischemică. Vase dilatate pentru a permite colectarea infiltratului leucocitar în jurul ariei necrotice (hematoxilina-eozina x 40) (caz 6793/2008)

5. Prezentări selective ale unor cazuri studiate.

Cazul 1. Corticală cu reducerea drastică a numărului glomerulilor, cu leziuni variate, de la colabarea marcată a ghemului capilar, până la modificări de tip proliferativ. Tubii contorți proximali sunt aglomerați, cu leziuni de distrofie granulo-vacuolară. În medulară, tubii uriniferi apar dilatați, cu epiteliul atrofiat. Arterele arcuate și interlobulare au îngustare marcată a lumenului, până la obliterarea completă.

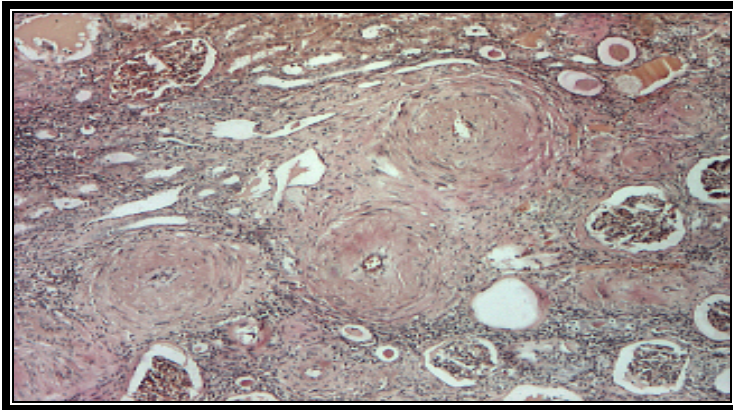


Fig.20 Artere arcuate; lumen redus prin proliferare de fibre musculare netede hialinizate (van Gieson x 40) (caz 9137/2006)

Cazul 3. Accentuată reducere numerică glomerulară, cei restanți prezentând marcată hialinizare și fibroză ce interesează atât capsula, cât și ghemul capilar. Înmulțire marcată a tubilor contorți, cu aspecte variate.

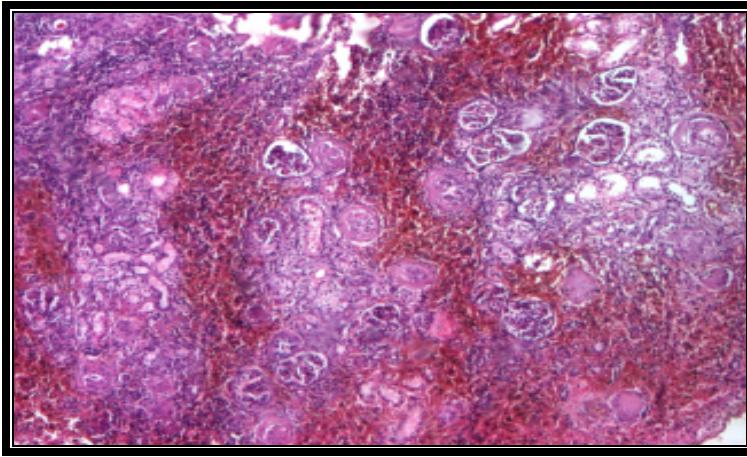


Fig.23. Glomeruli cu accentuată fibroză subcapsulară; balonizare nefrocitară (H.E.x 40) (caz 5579/2009)

Interstițial, apare infiltrat inflamator polimorf difuz și, pe alocuri, nodular, în țesutul collagen hiperplaziat, cu proliferare marcată de neocapilare și fibroblaști, generând aspect de țesut de granulație. Arterele interlobare, arcuate și interlobulare au leziuni de arterită deformantă, îngroșarea marcată a endoteliului, cu îngustarea lumenului; endoreduplicarea laminei elastice interne (LEI).

Cazul 8. Marcată reducere a structurilor glomerulo-tubulare, cu persistența focală a unui număr mic de tubi contorți dilatați, cu atrofie nefrocitară; glomerulii sunt absenți.

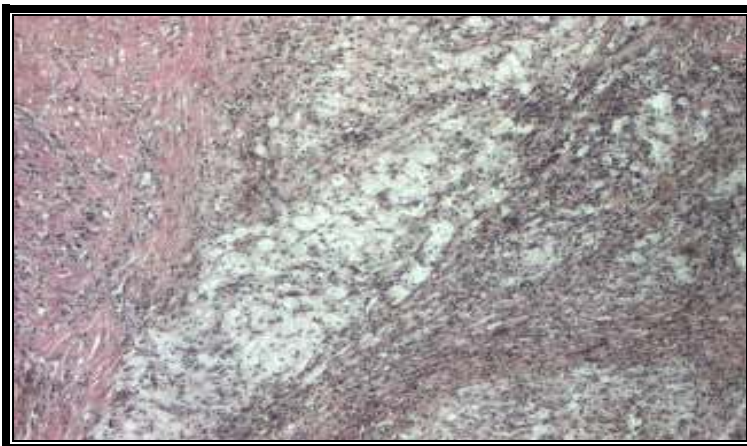


Fig.28. Inflamație granulomatoasă cu macrofage spumoase (van Gieson x 40) (caz 3117/2009)

Interstițiul prezintă proliferare colageno-fibroblastică intensă ce înconjoară plaje celulare întinse în care predomină macrofage cu citoplasma spumoasă, însoțite de o

proliferare de neocapilare și asociate cu zone de necroză parenchimatoasă și inflamație acută purulentă abcedată. Rarele artere arcuate au lumen colabat sau dilatat.

Cazul 10. Glomerulii sunt reduși numeric până la dispariție, cei restanți manifestă fenomene de obsolescență. Tubii au fenomene de atrofie, cu dispariție în focare extinse.

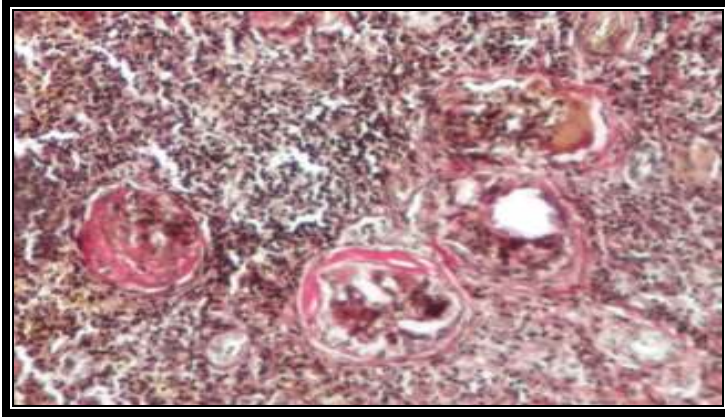


Fig.31. Glomeruli cu obsolescență parțială sau totală (van Gieson x 100) (caz 3651/2010).

Proliferare fibroblasto-colagenă difuză în interstițiu; abundant infiltrat limfoplasmocitar difuz cu formare focală de agregate limfoide, edem și de hiperemie. Arterele interlobare prezintă îngustare asimetrică a lumenului, edem și colagenizare subendotelială, hiperplazie miocitară, LEI puternic ondulată; artere interlobulare și arcuate globuloase, lipsite de lumen, tunica musculară fiind edemațiată și hipertrofică.

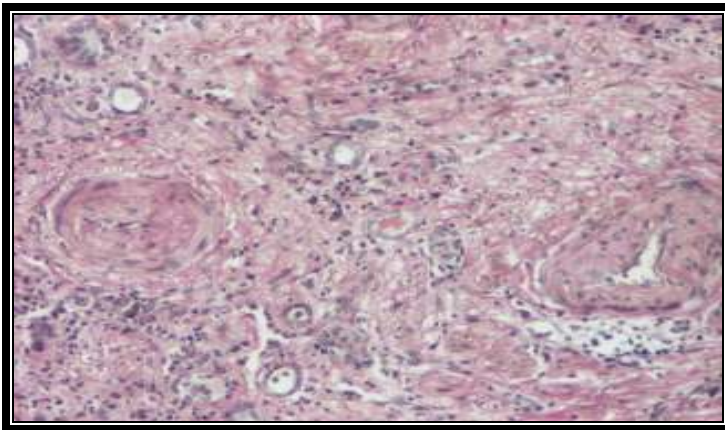


Fig.32. Artere arcuate localizate în corticală, cu lumen diminuat (van Gieson x 100) (caz 3651/2010)

Cazul 12. Glomeruli cu preponderența leziunilor de obsolescență. Tubii contorți au zone de atrofie și aglomerare, datorită fibrozei interstițiale intense. Epiteliul tubular cu distrofie granulo-vacuolară și dilatare chistică. Interstițial apare proliferare colagenă marcată și infiltrat inflamator limfo-plasmocitar abundent.

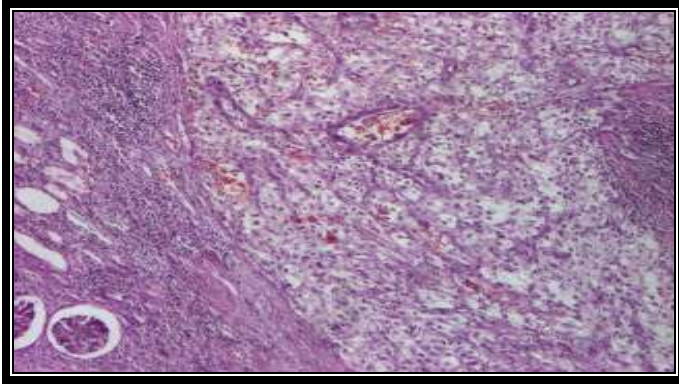


Fig.34. Proliferare de celule maligne cu citoplasmă clară (H.E.x 40) (caz 4371/2008).

Se evidențiază celule tumorale poligonale cu citoplasmă clară și nucleii rotunzi/angulari, localizați central, aranjate sub formă de insule separate de fine septuri conjunctive, însoțite de arii întinse de necroză, hemoragie și hiperplazie de neovase cu pereți subțiri; artere arcuate și interlobulare cu îngustarea marcată a lumenului.

Cazul 15. Arteriole aferente cu hiperemie și necroză fibrinoidă extensivă în perete, modificări degenerative în structurile peretelui vascular (picnoză nucleară/cariorexis) și fenomene inflamatorii. Capilarele peritubulare și vasa recta apar hiperemice. Interstițiul prezintă proliferare de țesut conjunctiv cu textură fibrilară, în cuprinsul căruia se remarcă inflamație limfo-monocitară difuză sau în agregate nodulare și focare de hemoragie.

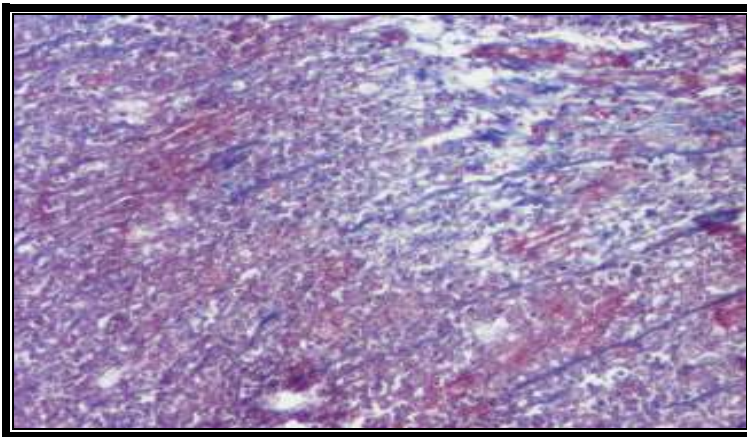


Fig.39. Interstițiu cu arii de textură fibrilară și inflamație cronică (Massonx 40). Pielonefrită cronică (caz 6621/2007).

6. Aspecte imunohistochimice și de imunofluorescență în cazurile studiate

Cercetarea riguroasă a preparatelor microscopice evidențiază ca principală trăsătură histopatologică fibroza interstițială, elementul tisular responsabil de inițierea și progresiunea acesteia fiind fibroblastul, a cărui prezență în interstițiul renal este

controversată [17, 18]. Miofibroblastul este și el implicat în evenimentele fibrogenetice renale, acesta derivând din diferențierea fibroblaștilor, migrarea fibrelor musculare netede ale peretelui vascular, modificarea celulelor tubulare [18, 19].

Observația, confirmată și de prezentul studiu, că fibroza tubulo-interstițială are o dispoziție predominant peritubulară sugerează că celulele epiteliului tubular au un rol patogenetic important. Unele celule devin apoptotice, contribuind la atrofia tubulară, iar altele încep să exprime citokine, inițiatorii procesului de “tranziție” sau “transdiferențiere” epitelio-mezenchimală (TEM). În scopul evaluării mecanismului TEM, s-a realizat un panel minim de anticorpi monoclonali (tabel nr.6).

Tabel nr 6. Anticorpii monoclonali utilizați pentru evidențierea TEM.

TIPUL DE MARKER	MARKER SPECIFIC	TIP DE REACȚIE	SURSA PRODUSULUI
markeri de proliferare celulară	PCNA (proteină auxiliară ADN-polimerazei)	reacție nucleară	DAKO Monoclonal Mouse antiProliferating Cell Nuclear Antigen, clone PC 10, isotype IgG2a, kappa
markeri epiteliali	citokeratina filament intermediar (marker fundamental al diferențierii epiteliale)	reacție intracitoplasmatică	DAKO Monoclonal Mouse anti-Human Cytokeratin, clone MNF 116, isotype IgG1, kappa
markeri mezenchimali	vimentina (componentă a citoscheletului)	reacție intracitoplasmatică	DAKO Monoclonal Mouse anti-Vimentin, clone Vim 3B4, isotype IgG2a, kappa
	colagen tip I	reacție la nivelul fibrelor de colagen	Chemicon International Mouse anti-Collagen type I Monoclonal Antibody MAB 3391
markeri musculari	α-SMA (microfilament alcătuit din monomeri globulari)	reacție intracitoplasmatică	DAKO Monoclonal Mouse anti-Human Actin, clone 1A4, isotype IgG2a, kappa
markeri fibroblastici	FSP1 – S100A4 (proteină complexă heterotrimeră dependentă de calciu)	reacție intracitoplasmatică și nucleară	DAKO Rabbit anti-Human S100 A4

S-au constatat grade variabile de pozitivitate pentru PCNA a celulelor tubulare și a fibroblaștilor indicând o creștere semnificativă a capacității lor proliferative și diminuarea până la absență a expresiei markerilor epiteliali la nivelul celulelor tubulare.

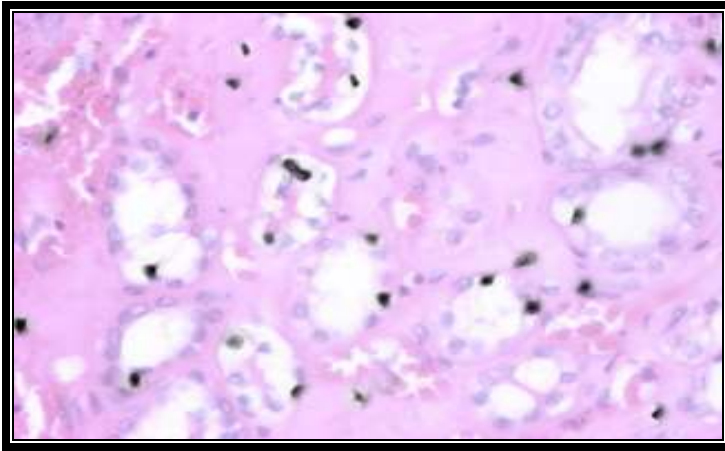


Fig. 41. PCNA ++ în celulele tubulare și în fibroblaștii interstițiali (x100) (caz 5579/2009).

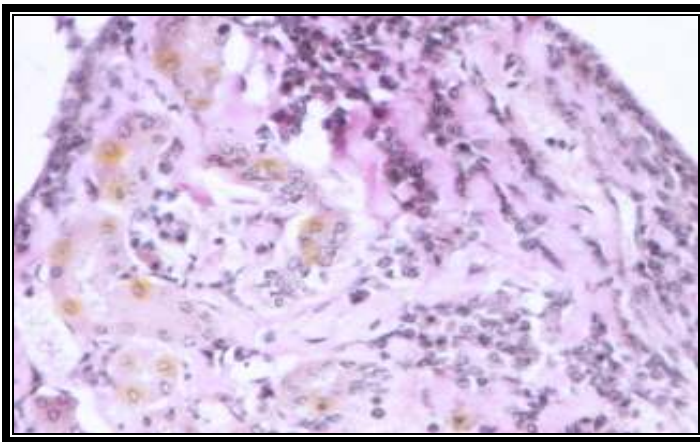


Fig.43. Reacție slab+ la citokeratină în celulele epitelului tubular (x 200)(caz 2413/2009).

Expresia FSP1-S100A4 a fost prezentă în toți fibroblaștii aflați în stare latentă sau activată (miofibroblast). În cazurile studiate, ce au evidențiat fibroză asociată unei inflamații persistente, serul policlonal anti-FSP1 a dat reacții pozitive în fibroblaștii din ariile de depunere colagenă interstițială și în epitelul tubular adiacent focarelor inflamatorii alcătuite predominant din limfocite, confirmând ipoteza că, în majoritatea cazurilor, fibroblaștii derivă din conversia locală a epitelului prin TEM.

Au fost detectate celule tubulare și interstițiale ce exprimă vimentina, însă reacțiile pozitive la acest anticorp monoclonal nu au avut o distribuție constantă. Numărul

celulelor tubulare cu caractere fenotipice mezenchimale a fost direct proporțional cu gradul fibrozei interstițiale.

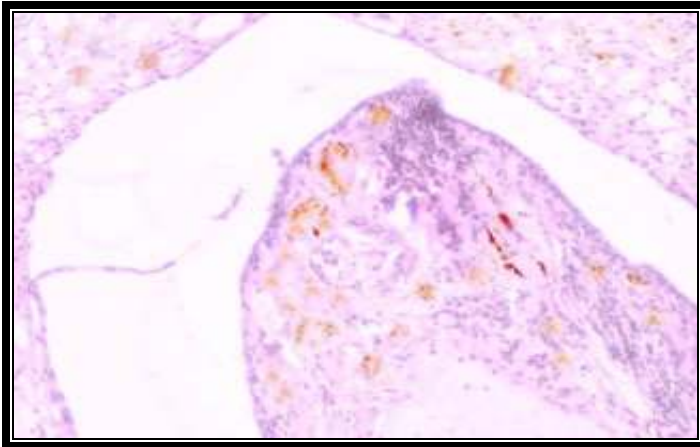


Fig. 45. Reacție + la vimentină în celulele tubulare și în fibroblaști, direct proporțională cu gradul fibrozei (x 100) (caz 4761/2010).

În plus, celulele tubulare și interstițiale au fost pozitive pentru collagen tip I, tipul de fibră caracteristică țesutului fibros matur implicat în repararea tisulară, a cărei expresie a fost observată direct proporțional cu gradul fibrozei.

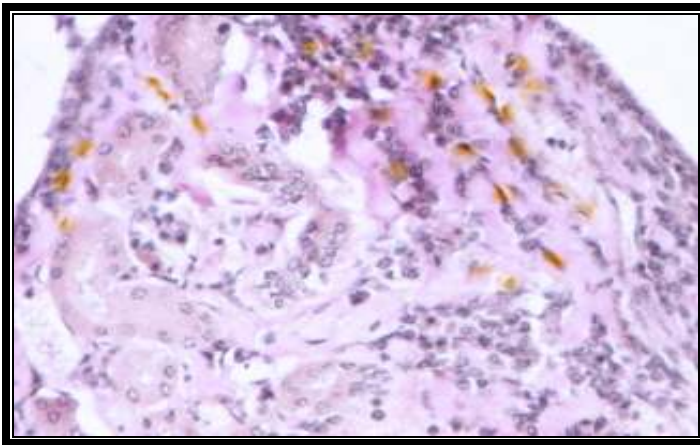


Fig. 46. Reacție + la collagen I (x 200) (caz 6487/2008).

Identificarea α -SMA, markerul miofibroblastic, s-a pus în evidență pe câmpul microscopic, dar nu a fost observată în toți fibroblaștii FSP1+, sugerând că actina mușchiului neted nu este un marker specific al fibroblastului.

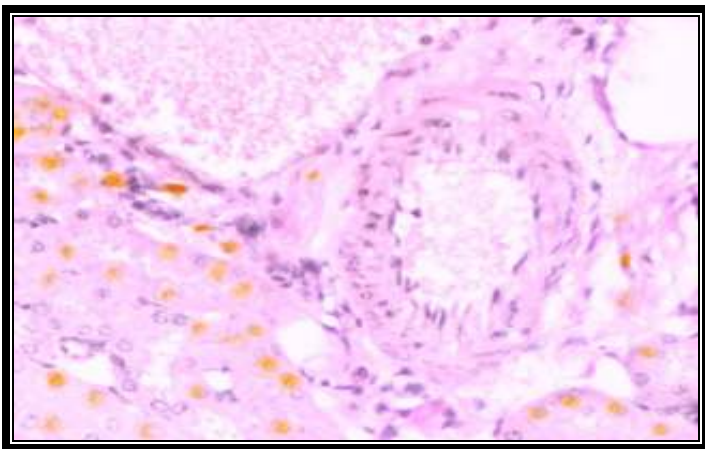


Fig. 47. Reacție ++ la FSP1 în fibroblaștii interstițiali și în celulele tubulare (x 200) (caz 3269/2010).

S-a constatat prezența de celule epiteliale hipertrofiate ce au exprimat atât citokeratina, cât și α -SMA, ceea ce indică faptul că acestea au fost surprinse într-o etapă intermediară a procesului de TEM. Analiza calitativă a folosit următoarea scală de evaluare: 0 – absența din câmpul microscopic a celulelor α -SMA+; + - o singură celulă α -SMA+ pe câmp microscopic; ++ - grupuri de celule α -SMA+ pe un câmp microscopic; +++ - grupuri de celule α -SMA+ pe mai multe câmpuri microscopice. S-a observat o corelație semnificativă între numărul celulelor tubulare α -SMA+, acumularea de miofibroblaste α -SMA+ și severitatea fibrozei tubulo-interstițiale, cunoscut fiind faptul că activitatea fibrogenetică a miofibroblastului este mai intensă decât a fibroblastului (Muller, 1992)[20].

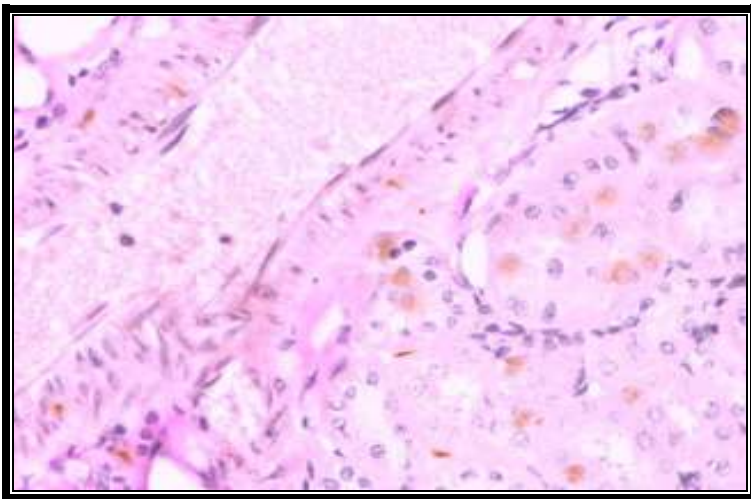


Fig. 50. Reacție + la α -SMA în celulele epiteliale hipertrofiate (x 200) (caz 7463/2010).

Din corelarea acestor date rezultă ideea că FSP1-S100A4 reprezintă markerul cel mai fidel pentru fibroblastul cu origine epitelială, constituind un indicator precoce important în evidențierea tranziției epitelio-mezenchimale. Distribuția α -SMA la nivel tubular și interstițial confirmă apariția miofibroblastului prin procesul de TEM, iar reacția α -SMA+ în peretele arterial și în interstițiu evocă posibilitatea transformării miocitului vascular în miofibroblast.

Rezultatele aplicării metodelor imunohistochimice sugerează că, prin tranziția spre un fenotip mezenchimal, celulele tubulare pot produce, via fibroblast și miofibroblast, proteine ale matricei extracelulare, intervenind direct în procesele de fibroză interstițială.

Imunofluorescența completează diagnosticul morfologic clasic și imunohistochimic prin exploatarea caracteristicilor anticorpilor utilizați, anticorpi care acționează specific, pe principiul complementarității, cu anumite secvențe de aminoacizi din structura proteinelor celulare, secvențe denumite epitopi. Anticorpii utilizați sunt grupați în izotipuri – dimeri pentru imunoglobuline A și pentameri pentru imunoglobuline M [21].

În studiul nostru au fost detectate pozitivări imunofluorescente pentru unele tipuri de glomerulonefrite și glomerulopatii asociate diabetului zaharat în contextul afectării renale, detectându-se pozitivarea fracțiunii complement C3 în glomerulopatiile membranoproliferative, în glomerulonefritele cu IgA. De asemenea pot fi exprimate prin imunofluorescență glomeruloscleroza segmentară, cu pozitivare prin aplicare de IgG și nefropatia lupică prin pozitivarea în imunofluorescență a fracțiunii C1 a complementului.

CORELAȚII ANATOMOCLINICE ÎN LOTUL STUDIAT

1. Corelații anatomoclinice la pacienții cu boală renală diabetică

Obiectivul principal în lotul studiat a fost identificarea leziunilor de nefropatie diabetică și corelarea acestora cu parametrii clinici și paraclinici.

Leziuni renale caracteristice pentru nefropatia diabetică au fost găsite la un număr de 39 de pacienți din totalul de 127, reprezentând un procent de 30,71%. Dintre acești pacienți, 11 aveau diabet zaharat de tip 1 (9 cu o durată a diabetului zaharat mai mare de

20 ani, 1 pacient cu durată de 16 ani și 1 pacient cu comă diabetică inaugurală). 28 pacienți aveau diabet zaharat de tip 2.

Pacienții au fost împărțiți în două loturi:

- lotul A – cu nefropatie diabetică
- lotul B – fără nefropatie diabetică

S-au analizat cele două loturi în raport cu o serie de parametri clinici și paraclinici. Distribuția pe sexe în cele două loturi este ilustrată în tabelul 7.

Lot	Bărbați	Procent bărbați(%)	Femei	Procent femei(%)	Total
Lotul A	13	33,33	26	66,67	39
Lotul B	45	51,14	43	48,86	88

Tabel 7– Distribuția pe sexe în loturile studiate

În ambele loturi predomină pacienții provenind din mediul urban, așa cum se întâmplă la întreg lotul de pacienți studiat.

Numărul de pacienți prezentând leziuni histopatologice de nefropatie diabetică a crescut odată cu vârsta, cel mai mare număr de cazuri fiind în grupa de vârstă situată între 70-79 ani, aceasta fiind și grupa de vârstă în care se încadrau cei mai mulți pacienți (53 din total) așa cum se poate vedea și în figura 23. La grupa de vârstă peste 80 de ani, numărul de cazuri de nefropatie diabetică este mai redus, dar acest lucru poate fi interpretat prin prisma numărului mic de pacienți (9 în total).

Distribuția cazurilor de nefropatie diabetică a fost analizată în raport cu durata diabetului zaharat (tabel nr.8), pacienții celor 2 loturi fiind împărțiți în 2 subgrupuri, cu durata diabetului zaharat sub 10 ani, respectiv peste 10 ani.

Durată diabet zaharat	Număr pacienți lot A	Procent pacienți lot A	Număr pacienți lot B	Procent pacienți lot B
sub 10 ani	7	17,95%	45	51,14%
peste 10 ani	32	82,05%	43	48,86%

Tabel nr.8. Distribuția nefropatiei diabetice în funcție de durata diabetului zaharat

Un aspect important urmărit a fost corelarea bolii renale diabetice cu o serie de parametri clinici și paraclinici.

Hipertensiunea arterială reprezintă frecvent, la pacienții cu diabet zaharat de tip 1, o consecință a bolii renale diabetice. La pacienții cu diabet zaharat de tip 2, apariția hipertensiunii precede de obicei apariția diabetului zaharat și a bolii renale diabetice.

La pacienții studiați, s-a luat în calcul media valorilor tensionale sistolice și diastolice înregistrate în fișele de dispensarizare ale pacienților cu diabet zaharat pe o perioadă de 5 ani anterior decesului. Prezența leziunilor de nefropatie diabetică s-a corelat cu valorile tensionale sistolice de peste 160 mmHg ($p=0.009$) (tabel nr.9)

Tensiunea arterială sistolică	Lotul A	Lotul B
Media aritmetică	158,97	149,15
Eroarea standard	3,08	1,91
Mediana	164	152
Modul	165	145
Deviația standard	19,25	17,93
Boltirea	0,75	-0,18
Asimetria	-0,90	-0,57
Amplitudinea variației	77	82
Valoarea minimă	110	110
Valoarea maximă	187	192
Număr de elemente	39	88
Intervalul de încredere (95.0%)	6,24	3,80
p	0,009	

Tabel nr.9 – Corelația valorilor tensiunii arteriale sistolice cu nefropatia diabetică

Analiza statistică a cazurilor din lotul studiat a demonstrat că prezența nefropatiei diabetice s-a corelat și cu valoarea tensiunii arteriale diastolice, cea mai importantă corelație fiind cu tensiunea arterială diastolică mai mare de 95 mmHg. ($p = 0.0007$).

Tensiunea arterială diastolică	Lot A	Lot B
Media aritmetică	90,85	83,75
Eroarea standard	1,70	1,05
Mediana	95	84
Modul	100	70
Deviația standard	10,62	9,84
Boltirea	-0,67	-1,05
Asimetria	-0,64	0,20
Amplitudinea variației	35	35
Valoarea minimă	70	70
Valoarea maximă	105	105
Număr de elemente	39	88
Intervalul de încredere(95.0%)	3,44	2,08
p	0,0007	

Tabel nr. 10- Corelația tensiunii arteriale diastolice cu leziunile de nefropatie diabetică

Se poate concluziona că valorile tensionale de peste 160/95 mmHg reprezintă un factor de risc pentru apariția sau agravarea leziunilor de nefropatie diabetică.

Hiperglicemia persistentă, precum și variațiile mari ale glicemiei și hemoglobinei glicate au un rol important în apariția bolii renale diabetice [22, 23], mecanismele etiopatogenetice fiind diverse. Am analizat dacă aceste corelații se aplică și în lotul studiat. S-a ales ca referință media glicemiilor a jeun înscrise în foile de dispensarizare ale pacienților diabetici, în ultimii cinci ani anterior decesului. Pacienții au fost împărțiți în 4 grupe (tabelul nr.11):

- cu glicemii medii a jeun sub 100 mg/dl,
- cu glicemii medii a jeun între 100-129 mg/dl,
- cu glicemii medii a jeun între 130-159 mg/dl,
- cu glicemii medii a jeun peste 160 mg/dl.

Glicemie	Lotul A	Procent lot A	Lotul B	Procent lot B
< 100 mg/dl	0	0,00 %	0	0,00 %
100 - 129 mg/dl	3	7,69 %	14	15,91 %
130 - 159 mg/dl	7	17,95 %	19	21,59 %
> 160 mg/dl	29	74,36 %	55	62,50 %

Tabel 11– Distribuția pacienților în funcție de valoarea medie a glicemiilor a jeun

La pacienții cu boală renală diabetică (lotul A), prezența leziunilor histopatologice caracteristice s-a corelat cu valoarea medie a glicemiilor a jeun, cea mai importantă corelație fiind cu glicemii medii peste 160 mg/dl ($p=0.001$) (tabel 12). Datorită numărului redus de cazuri, datele nu sunt semnificative din punct de vedere statistic.

Glicemie	Lotul A	Lotul B
Media aritmetică	212,36	176,23
Eroarea standard	9,51	4,81
Mediana	211	168
Modul	158	163
Deviația standard	59,37	45,09
Boltirea	-1,16	-0,51
Asimetria	0,15	0,56
Amplitudinea variației	201	172
Valoarea minimă	123	107
Valoarea maximă	324	279
Număr de elemente	39	88
Intervalul de încredere (95.0%)	19,24	9,55
p	0,001	

Tabel nr.12 – Corelația leziunilor de boală renală diabetică cu valoarea medie a glicemiilor a jeun

S-a analizat prezența leziunilor de boală renală diabetică în raport cu valoarea medie a colesterolului total în ultimii 5 ani anterior decesului.

Distribuția pacienților din cele două loturi (cu nefropatie diabetică – lotul A și fără nefropatie diabetică – lotul B), în funcție de valoarea medie a colesterolului seric este prezentată în tabelul nr.13. Atât în lotul A, cât și în lotul B, cel mai mare număr de pacienți au prezentat valori medii ale colesterolului seric peste 200 mg/dl.

Colesterol total (mg/dl)	Număr pacienți lot A	Procent pacienți lot A	Număr pacienți lot B	Procent pacienți lot B
< 200	6	15,38%	24	27,27%
200 - 250	18	46,15%	45	51,14%
> 250	15	38,46%	19	21,59%

Tabel nr. 13– Distribuția pacienților în funcție de valoarea medie a colesterolului

În grupul pacienților cu valori medii ale colesterolului seric de peste 250 mg/dl, majoritatea au fost cei din lotul A, cu nefropatie diabetică. La pacienții din lotul studiat, s-a stabilit o corelație între valoarea medie a colesterolului seric și prezența leziunilor de boală renală diabetică ($p=0.0324$), dar datorită numărului mic de cazuri datele nu pot fi semnificative din punct de vedere statistic.

Datele anatomopatologice au fost analizate și în raport cu valorile medii ale trigliceridelor serice înregistrate în cele două loturi (cu și fără nefropatie diabetică).

Trigliceride (mg/dl)	Număr pacienți lot A	Procent pacienți lot A	Număr pacienți lot B	Procent pacienți lot B
< 150	5	12,82 %	11	12,50 %
150 - 200	8	20,51 %	39	44,32 %
> 200	26	66,67 %	38	43,18 %

Tabel nr.15 – Distribuția pacienților în raport cu valoarea medie a trigliceridelor serice

Prezența leziunilor de nefropatie diabetică s-a corelat cu valoarea medie a trigliceridelor serice ($p=0.0484$), mai ales la valori ale trigliceridelor de peste 200 mg/dl.

Având în vedere datele rezultate din analiza statistică se poate construi un tablou al factorilor de risc pentru apariția bolii renale diabetice, reprezentați de: durata diabetului zaharat peste 10 ani, valorile tensionale mai mari de 160/95 mmHg, valorile glicemice a jeun peste 160 mg/dl, valorile colesterolului seric total peste 250 mg/dl și valorile trigliceridelor peste 200 mg/dl. Vârsta ar putea fi un factor de risc suplimentar, posibil prin durata mai lungă de evoluție a diabetului zaharat și prin comorbiditățile asociate.

2. Corelații anatomoclinice la pacienții cu nefroangioscleroză

Din lotul de studiu, la un număr de 100 pacienți reprezentând 78.74 % din total s-au evidențiat leziuni de nefroangioscleroză. A existat o corelație semnificativă între leziunile de nefroangioscleroză și vârsta pacienților ($p=0.0000001$), (tabel nr.17).

Vârsta pacienților	Nefroangioscleroză prezentă	Nefroangioscleroză absentă
Media	69,18	57,59
Eroarea standard	0,87	2,53
Mediana	71	59
Modul	71	44
Deviatia standard	8,69	13,16
Varianta	75,56	173,10
Boltirea	0,59	-1,02
Asimetria	-0,64	-0,09
Amplitudinea variației	50	46
Valoarea minimă	38	33
Valoarea maximă	88	79
Dimensiunea lotului	100	27
Intervalul de încredere	1,72	5,20
	p	0,0000001

Tabel 17- Corelația dintre prezența leziunilor de nefroangioscleroză și vârsta pacienților

Datele sunt în concordanță cu cele din literatura de specialitate [24, 24, 26], care arată o prevalență crescută a leziunilor de nefroangioscleroză renală la pacienții vârstnici, fiind greu de precizat dacă sunt consecința vârstei sau a patologiei asociate [27].

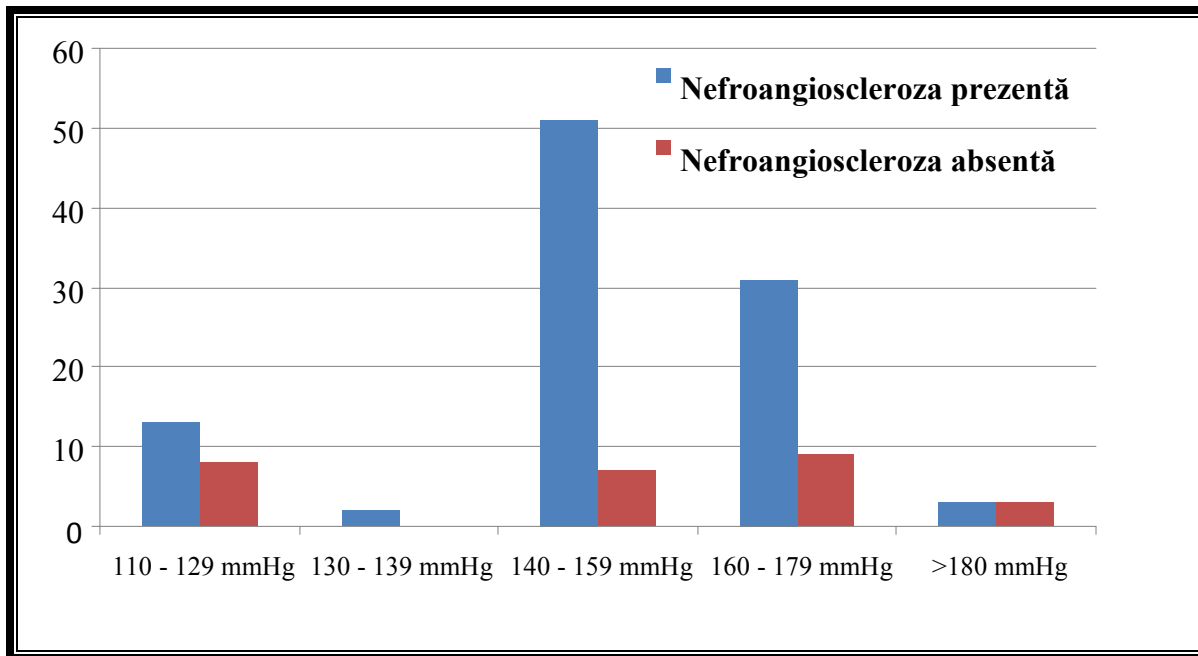
În urma analizei statistice, s-au stabilit corelații pozitive și între prezența leziunilor renale de nefroangioscleroză și durata diabetului zaharat ($p = 0.0834$), la pacienții cu diabet zaharat cu vechime mai mare de 5 ani (tabelul nr.18).

Durata diabetului zaharat	Nefroangioscleroza prezentă	Nefroangioscleroza absentă
Media	11,89	9,70
Eroarea standard	0,70	1,59
Mediana	12	8
Modul	1	1
Deviația standard	6,96	8,26
Varianta	48,42	68,22
Boltirea	0,40	-1,56
Asimetria	0,59	0,28
Amplitudinea variației	33	23
Valoarea minimă	1	1
Valoarea maximă	34	24
Dimensiunea lotului	100	27
Intervalul de încredere	1,38	3,27
	p	0,0834

Tabel 18 - Corelația dintre nefroangioscleroză și durata diabetului zaharat.

Leziunile de nefroangioscleroză sunt considerate a fi secundare hipertensiunii arteriale [28]. În lotul de studiu, dintre cei 100 de pacienți cu nefroangioscleroză, 86 (86%) au avut istoric medical de hipertensiune arterială.

Prezența leziunilor renale de nefroangioscleroză s-a corelat cu valorile tensionale, cea mai importantă corelație fiind la valori ale tensiunii arteriale sistolice cuprinse între 140 și 159 mmHg (grafic nr.19).



Grafic nr.19 – Corelația nefroangiosclerozei cu hipertensiunea arterială

S-a încercat stabilirea unei corelații între prezența leziunilor vasculare renale și echilibrul metabolic al pacienților din lotul de studiu, prezența nefroangiosclerozei fiind corelată ($p=0.006205$) cu valoarea medie a glicemiilor a jeun din ultimii 5 ani, cea mai importantă corelație fiind la valori medii ale glicemiei a jeun peste 160 mg/dl (tabel 19).

La pacienții din lotul studiat, a existat o corelație între prezența hipertrigliceridemiei și leziunile renale de nefroangioscleroză, la valori ale trigliceridelor mai mari de 160 mg/dl, dar datele nu au fost semnificative din punct de vedere statistic.

Statusul de fumător sau nefumător nu s-a putut preciza la un procent important dintre pacienți. Apariția leziunilor renale de nefroangioscleroză nu a fost corelată cu sexul, mediul de proveniență rural sau urban al pacienților, valoarea indicelui de masă corporală și nici cu valoarea colesterolului total.

Glicemie	Nefroangioscleroză prezentă	Nefroangioscleroză absentă
Media	181,32	209,56
Eroarea standard	4,84	11,79
Mediana	169	214
Modul	163	214
Deviatia standard	48,36	61,28
Varianta	2338,72	3754,72
Boltirea	0,00	-1,16
Asimetria	0,78	-0,17
Amplitudinea variației	204	217
Valoarea minimă	107	107
Valoarea maximă	311	324
Dimensiunea lotului	100	27
Intervalul de încredere	9,60	24,24
	p	0,006205

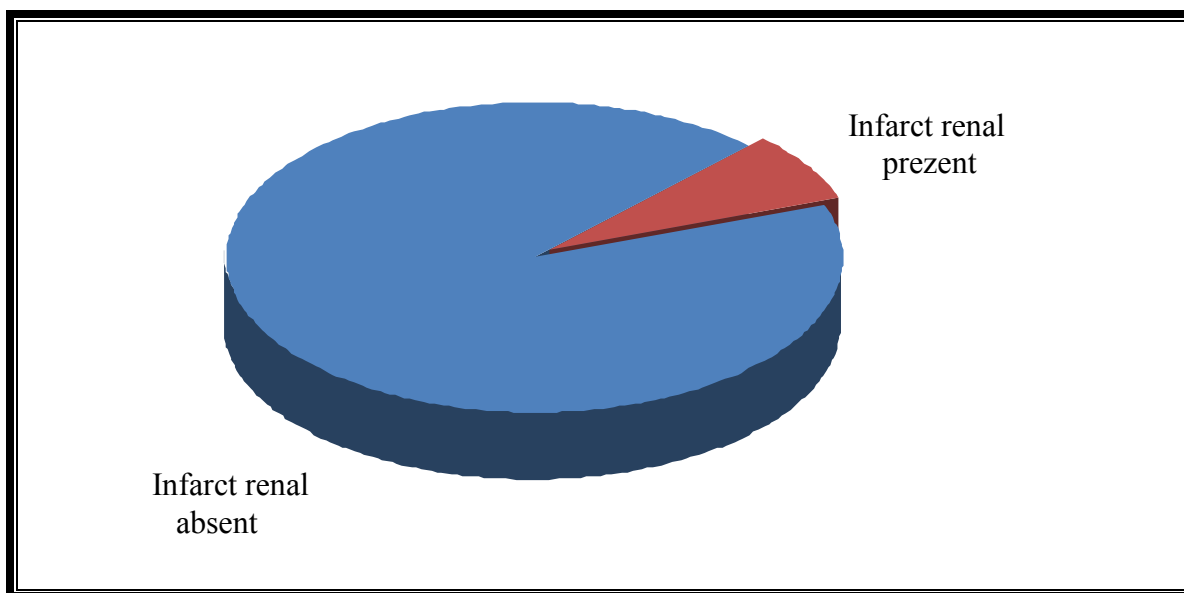
Tabel 19 – Corelația nefroangiosclerozei cu media glicemiilor a jeun

Corelațiile stabilite între leziunile de nefroangioscleroză și vârsta pacienților, durata diabetului zaharat, tensiunea arterială sistolică și valoarea medie a glicemiilor a jeun arată că etiologia este multifactorială, în acest sens pledând și date din literatura de specialitate [29, 30]. Indiferent de etiologie, evoluția este către boală renală cronică terminală, suprapunerea mai multor factori de risc grăbind această evoluție [31, 32, 33].

3. Corelații anatomoclinice la pacienții cu infarct renal

Asocierea diabetului zaharat cu vârsta înaintată, hipertensiunea arterială sau diverse afecțiuni cardiovasculare (în special fibrilația atrială permanentă și valvulopatiile) [34], precum și cu obezitatea și dislipidemiile [35, 36, 37] crește riscul de apariție al ateromatozei vaselor renale și al infarctului renal.

În lotul de studiu, infarctul renal a fost evidențiat la 9 pacienți din totalul de 127, reprezentând un procent de 7.1% (grafic nr.22).



Grafic nr.22 – Distribuția infarctului renal în lotul de studiu

Analizând datele, s-a stabilit o corelație între vârsta pacienților din lotul studiat și prezența infarctului renal ($p=0.041341339$). Numărul de cazuri a crescut odată cu vârsta pacienților și cu valoarea medie a tensiunii arteriale sistolice mai mare de 140 mmHg.

În majoritatea cazurilor, infarctul renal nu a fost diagnosticat anterior decesului, infarctele renale mici având adesea simptomatologie nespecifică [38]. 5 pacienți aveau asociate condiții clinice favorizante (fibrilație atrială permanentă și valvulopatii). Numărul mic de cazuri nu a permis însă obținerea unor date semnificative din punct de vedere statistic.

Nu s-au putut stabili corelații între prezența infarctului renal și sex, mediu rural/urban, tipul de diabet zaharat, durata diabetului zaharat, valoarea medie a colesterolului seric, trigliceridelor și glicemiei.

4. Discuții generale

Afectarea renală la pacientul diabetic evoluează și are prognostic diferit în funcție de etiologie. În lotul studiat, prognosticul final al pacienților a fost nefavorabil, afecțiunile pe care le aveau evoluând către deces. Cu toate acestea, doar la 10 pacienți decesul a fost cauzat de boala renală cronică terminală, în celelalte cazuri decesul fiind determinat cel mai frecvent de afecțiuni cardiovasculare.

Prezența leziunilor de nefropatie diabetică s-a corelat cu vechimea diabetului zaharat mai mare de 10 ani și cu controlul glicemic, chiar dacă numărul redus de cazuri nu a permis obținerea unor date semnificative din punct de vedere statistic. Asocierea cu hipertensiunea arterială a crescut riscul de apariție a proteinuriei și accelerare a declinului funcției renale, așa cum arată și datele din literatură [39].

Majoritatea pacienților din lotul de studiu au asociat multipli factori de risc cardiovascular (vârstă înaintată, dislipidemii, hipertensiune arterială), lucru dovedit și de ponderea mare a leziunilor vasculare renale, izolate sau intricate cu alte tipuri de leziuni renale. Cea mai frecventă leziune renală identificată a fost nefroangioscleroza, leziunile renale fiind corelate cu vârsta pacienților, durata diabetului zaharat, valoarea tensiunii arteriale sistolice și valoarea medie a glicemiilor a jeun.

Infarctul renal a fost întâlnit la 7.08 % din pacienții studiați, procent explicabil prin cumulul de factori de risc la pacienții cu diabet zaharat incluși în lotul studiat și prin faptul că diagnosticul este pus retrospectiv, la necropsie, având în vedere că infarctele renale mici au simptomatologie atipică.

Bolile renale nondiabetice apărute la pacienții cu diabet zaharat au o rată de progresie naturală mai scăzută decât boala renală diabetică, dar suprapunerea unei nefropatii de altă etiologie peste nefropatia diabetică accelerează declinul funcției renale.

Glomerulonefritele membranoproliferative, din care în lotul studiat s-au evidențiat două cazuri, au o evoluție lent progresivă către insuficiență renală cronică. Afectarea renală din lupusul eritematos sistemic are de obicei un prognostic nefavorabil, evoluând către insuficiență renală cronică. În lotul studiat, a existat un singur caz de glomerulonefrită lupică. În acest caz diabetul zaharat avea o vechime mică și era secundar terapiei cortizonice urmate pentru lupusul eritematos. La necropsie nu s-au

evidențiat alte tipuri de leziuni renale suprapuse nefritei lupice, decesul fiind datorat bolii de bază care a evoluat către insuficiență renală cronică terminală.

Elementele de originalitate ale studiului rezultă din analizarea retrospectivă a unui lot alcătuit din pacienți cu diabet zaharat atât din punct de vedere al datelor clinice și paraclinice în condiții de practică medicală curentă, cât și din punct de vedere al elementelor histopatologice renale și obținerea unui profil clinic de risc pentru apariția leziunilor renale.

O particularitate a pacienților din lotul studiat a fost numărul crescut de pacienți cu vârstă peste 65 ani. La această grupă de vârstă, se asociază frecvent multiple comorbidități (HTA, dislipidemii) sau declin cognitiv [40], iar evoluția diverselor nefropatii către boală renală cronică terminală este influențată de interrelația dintre toți acești factori [41], pacienții necesitând abordare multidisciplinară [42]. Distribuția pe grupe de vârstă, cu ponderea mai mare a pacienților peste 65 ani, a furnizat date despre asocierea de multiple comorbidități și efectul lor asupra leziunilor renale.

Distribuția pe cauze de deces, cu prezența pe primul loc a afecțiunilor cardiovasculare este în concordanță cu literatura de specialitate, dar prezența pe locul doi a cauzelor infecțioase arată precaritatea apărării antiinfecțioase la pacienții diabetici și importanța prevenirii proceselor infecțioase la acești pacienți, printr-un bun echilibru metabolic și prin prevenirea leziunilor caracteristice piciorului diabetic.

Studiul microscopic al leziunilor renale a evidențiat ca trăsătură histopatologică dominantă fibroza interstițială renală, cu dispoziție predominant peritubulară.

Studiul imunohistochimic a evidențiat în cazurile cu fibroză asociată unei inflamații persistente diminuarea marcată a expresiei markerilor epiteliali ca citokeratina, cu creșterea expresiei unor markeri fibroblastici (FSP1), demonstrând ipoteza că fibroblaștii derivă din conversia locală a epiteliului prin tranziție epitelio-mezenchimală (TEM). Markerul evidențiat a fi cel mai fidel pentru a indica precoce procesul TEM a fost FSP1-S100A4.

Totodată, au existat grade variabile de pozitivitate pentru markerii de proliferare celulară ca proteina auxiliară ADN-polimerazei (PCNA) în celulele tubulare și fibroblaști, indicând o creștere semnificativă a capacității lor de proliferare. Identificarea markerului miofibroblastic α -SMA nu s-a realizat în toți fibroblaștii FSP1+, ceea ce

sugerează că actina mușchiului neted nu este un marker specific al fibroblastului. Pe de altă parte, s-a observat o corelație între numărul de celule tubulare α -SMA+ și severitatea fibrozei interstițiale.

Prezența la un număr mare de pacienți a leziunilor renale caracteristice asocierii dintre diabetul zaharat și hipertensiunea arterială, a permis crearea unui tablou al riscului de afectare renală la un pacient cu diabet zaharat, leziunile renale fiind corelate cu durata diabetului zaharat mai mare de 10 ani, valorile medii ale tensiunii arteriale mai mari de 160/95 mm Hg, valorile medii ale glicemiilor a jeun peste 160 mg/dl, valorile medii ale colesterolului total peste 250 mg/dl și ale trigliceridelor de peste 160 mg/dl.

Evidențierea caracteristicilor anatomopatologice renale la pacienți cu diabet zaharat și stabilirea unor corelații cu datele clinice și paraclinice uzuale, a permis obținerea unor concluzii care pot avea aplicabilitate practică în cabinetele medicilor diabetologi.

CONCLUZII FINALE

1. Diabetul zaharat este o afecțiune a cărei prevalență a crescut semnificativ în ultimii ani, crescând astfel numărul de pacienți care pot dezvolta complicații cronice.
2. Diagnosticul diferențial al bolii renale diabetice este uneori dificil de realizat, necesitând, pe lângă datele clinice și paraclinice și date anatomopatologice, obținute prospectiv, prin efectuarea puncției biopsie renală sau retrospectiv, cu ocazia necropsiei.
3. Elementele de originalitate ale studiului rezultă din analizarea retrospectivă a unui lot de pacienți cu diabet zaharat atât din punct de vedere al datelor clinice și paraclinice în condiții de practică medicală curentă, cât și din punct de vedere al elementelor histopatologice renale.
4. În lotul analizat, format din 127 pacienți, se remarcă o preponderență a sexului feminin și o pondere mai mare a pacienților din grupa de vârstă peste 65 ani, cu mulți factori de risc asociați, ceea ce ne-a furnizat date despre efectul acestora asupra leziunilor renale..
5. Distribuția pe cauze de deces, cu prezența pe primul loc a afecțiunilor cardiovasculare (61,4% din total) este în concordanță cu literatura de specialitate, dar prezența pe locul doi a cauzelor infecțioase arată precaritatea apărării antiinfecțioase la pacienții diabetici și importanța prevenirii proceselor infecțioase la acești pacienți.
6. Cele mai frecvent întâlnite leziuni renale au fost cele de nefroangioscleroză (100 pacienți din 127, reprezentând 78.74%). Prezența nefroangiosclerozei s-a corelat cu vârsta pacienților, durata diabetului zaharat, valorile medii ale glicemiei a jeun de peste 160 mg/dl și valorile tensiunii arteriale sistolice mai mari de 140 mmHg.
7. Leziuni tipice pentru boala renală diabetică s-au întâlnit la un număr de 39 de pacienți din totalul de 127 (30,71%), acestea corelându-se cu durata diabetului zaharat mai mare de 10 ani, valorile tensiunii arteriale mai mari de 160/95 mmHg, valorile glicemice a jeun peste 160 mg/dl, valorile colesterolului seric total peste 250 mg/dl și valorile trigliceridelor peste 200 mg/dl.
8. Leziuni renale caracteristice infarctului renal s-au evidențiat la un număr de 9 pacienți (7.08% din total). Apariția infarctului renal s-a corelat cu vârsta și valorile tensiunii arteriale sistolice, dar datorită numărului redus de cazuri datele nu au fost semnificative din punct de vedere statistic.

9. La un număr redus de pacienți din lotul studiat s-au evidențiat leziuni specifice altor nefropatii (glomerulonefrită membranoproliferativă stadiul I și stadiul II, nefrită lupică, glomeruloscleroză segmentară, carcinom renal cu celule clare, pielonefrită cronică, necroză papilară renală).
10. În studiul nostru au fost detectate pozitivări imunofluorescente pentru unele tipuri de glomerulonefrite și glomerulopatii, detectându-se pozitivarea fracțiunii de complement C3 în glomerulopatiile membranoproliferative, a fracțiunii C1 în nefropatia lupică și pozitivare prin aplicare de IgG în glomeruloscleroza segmentară.
11. Studiul microscopic al leziunilor renale a evidențiat ca trăsătură histopatologică dominantă fibroza interstițială renală, cu dispoziție predominant peritubulară, proces în care TGF- β (transforming growth factor) ocupă o poziție centrală prin stimularea sintezei fibroblastice de proteine interstițiale și prin facilitarea tranziției epitelio-mezenchimale (TEM), inducând expresia proteinei specifice a fibroblastelor (FSP1) în celulele epiteliale aflate în acest proces.
12. Studiul imunohistochimic a evidențiat în cazurile cu fibroză asociată unei inflamații persistente diminuarea expresiei markerilor epiteliali ca citokeratina, cu creșterea expresiei unor markeri fibroblastici ca FSP1, markerul cel mai fidel pentru a indica precoce procesul TEM fiind FSP1-S100A4. În aceste cazuri, serul policlonal anti-FSP1 a dat reacții pozitive în fibroblaștii din ariile cu depunere de collagen și în epiteliul tubular adiacent focarelor inflamatorii
13. S-au identificat grade variabile de pozitivitate pentru markerii de proliferare celulară ca proteina auxiliară ADN-polimerazei PCNA, în celulele tubulare și fibroblaști, indicând o creștere semnificativă a capacității lor de proliferare.
14. Identificarea markerului miofibroblastic α -SMA nu s-a realizat în toți fibroblaștii FSP1+, ceea ce sugerează că actina mușchiului neted nu este un marker specific al fibroblastului, dar s-a observat o corelație între numărul de celule tubulare α -SMA+ și severitatea fibrozei interstițiale.
15. Rezultatele aplicării metodelor imunohistochimice sugerează că, prin tranziția spre un fenotip mezenchimal, celulele tubulare pot produce, via fibroblast și miofibroblast, proteine ale matricei extracelulare, intervenind direct în procesele de fibroză interstițială.

16. Evidențierea caracteristicilor anatomopatologice renale la pacienți cu diabet zaharat și stabilirea unor corelații cu datele clinice și paraclinice uzuale a permis obținerea unor concluzii care pot avea aplicabilitate practică în cabinetele medicale.

17. La pacienții cu diabet zaharat, mai ales la cei cu vârstă înaintată, echilibrul glicemic, valorile tensiunii arteriale și funcția renală trebuie atent monitorizate pentru a reduce mortalitatea cardiovasculară.

Bibliografie selectivă

1. **Mogensen CE, Christensen CK, Vittinghus E.** The stages in diabetic renal disease: with emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes*, 32 (2): 64, 1983
2. **Wang Y, Chen X, Song Y, et al.** Association between obesity and kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Kidney Int*, 73:19-33, 2008.
3. **Afghani H, Cederholm J, Eliasson B, et al.** Risk Factors for the Development of Albuminuria and Renal Impairment in Type 2 Diabetes. The Swedish National Diabetes Register. *Nephrol Dial Transplant*, 26(4): 1236-1243, 2011.
4. **Mogoanța L, Georgescu CV, Popescu CF, Bădulescu A, Mehedinți M.** Ghid de tehnici de histologie, citologie și imunohistochimie. Ed. Medicală Universitară Craiova, 2003.
5. **Ardeleanu C, Comanescu V, Zaharia B.** Imunohistochimie, Ed. Sitech, 1999.
6. **Bancroft J, Gamble M.** Theory and practice of histological techniques, Ed. Churchill Livingstone, 2002.
7. **Mureșan P .** Manual de metode matematice în analiza stării de sănătate. Ed. Medicală, 1989.
8. **Mihoc Gh, Urseanu V, Ursianu E.** Modele de analiză statistică. Ed. Științifică și Enciclopedică, 1982.
9. **IDF Diabetes Atlas-Fifth edition**, 23-50, 2011.
10. **Zucchelli P, Zuccala A.** The diagnostic dilemma of hypertensive nephrosclerosis: the nephrologist's view. *Am J Kidney Dis*, (5 Suppl 2): 87-91, 1993.
11. **Morton J, Zoungas S, Li Q, Mbiostat, et al.** Low HDL cholesterol and the risk of diabetic nephropathy and retinopathy. Results of the ADVANCE study. *Diabetes Care*; 35(11):2201-2206, 2012.
12. **Kimmelstiel P, Wilson C.** Inter-capillary lesions in glomeruli of kidney. *Am J Pathol*, 12:83, 1936
13. **Serafinceanu C.** Boala renală diabetică, Editura Moroșan, București, 93-100, 2002.

14. **Steffes MW, Schmidt D, McCreery R, Basgen JM, the International Study Group.** Glomerular cell number in normal subjects and in type 1 diabetic patients. *Kidney Int*, 59, 2014-2113, 2001.
15. **Olsen S.** Renal histopathology in diabetes mellitus. In Mogensen CE ed. *Diabetic Nephropathy*. Aventis Pharma, Inc: 34-51, 2000.
16. **Bangstad HJ , Osterby R, Dahl Jorgensen K et al.** Early glomerulopathy is present in young, type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with microalbuminuria. *Diabetologia*, 36:523-9, 1993.
17. **Iwano M., Plieth D, Danoff T, et al.** Evidence that fibroblast derive from epithelium during tissue fibrosis. *J Clin Invest*, 110 (3): 341-350, 2002.
18. **Ng YY, Huang TP, Yang WC, et al.** Tubular epithelial–myofibroblast transdifferentiation in progressive tubulointerstitial fibrosis in 5/6 nephrectomized rats. *Kidney Int*, 54: 867-875, 1998.
19. **Fan J-M., Ng YY, Hill P, et al.** Transforming growth factor- β regulates tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation in vitro. *Kidney Int*, 56: 4, 1455, 1999.
20. **Muller G-A., Markovic-Lipkovski J, Frank R, Rodeman P .** The role of interstitial cells in the progression of renal diseases. *J Am Soc Nephrol*, 2: 198-205, 1992.
21. **Gherghiceanu M, Ceafalan CL, Mandache E, Pop S, Fertig E.** Bioimagică celulară și moleculară, Ed. Viața Medicală Românească, București, 26-35, 2013.
22. **Sugawara A, Kawai K, Motohashi S, et al.** HbA1c variability and the development of microalbuminuria in type 2 diabetes: Tsukuba Kawai Diabetes Registry 2 (Short Communication). *Diabetologia*, 55:2128-2131, 2012.
23. **Penno G, Solini A, Bonora E, et al. for the Renal Insufficiency And Cardiovascular Events (RIACE) Study Group.** HbA1c variability as an independent correlate of nephropathy, but not retinopathy, in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 36(8):2301-10, 2013.
24. **Gesualdo L, Di Palma AM, Morrone LF, Strippoli GF, Schena FP.** The Italian experience of the national registry of renal biopsies. *Kidney Int* 66, 890-894, 2004.

25. **Abboud H, Labreuche J, Duyckaerts C, Hauw JJ, Amarenco P.** Prevalence of nephroangiosclerosis in patients with fatal stroke. *Neurology* 72(10): 899-904, 2009.
26. **Gomez Campdera FJ, Luno J, Garcia de Vinuesa S, Valderrabano F.** Renal vascular disease in the elderly. *Kidney Int* 54, S73-S77, 1998.
27. **Meyrier A.** Renal vascular lesions in the elderly: nephrosclerosis or atheromatous renal disease ? *Nephrol Dial Transplant* 11 Suppl 9: 45-52, 1996.
28. **Bidani AK, Griffin KA.** Pathophysiology of hypertensive renal damage. Implications for therapy. *Hypertension*, 44: 595-601, 2004.
29. **Tylicki L, Rutkowski B, Hörl WH.** Multifactorial determination of hypertensive nephroangiosclerosis. *Kidney Blood Press Res*, 25(6): 341-53, 2002.
30. **Zuccala A, Cianci R, Presta P, Fuiano G.** Nephroangiosclerosis and ischaemic nephropathy: two different entities or two renal manifestations of the same systemic cardiovascular disease?. *G Ital Nephrol*, 26(3): 299-309, 2009.
31. **Zoccali C.** Endothelial Dysfunction and the Kidney: Emerging Risk Factors for Renal Insufficiency and Cardiovascular Outcomes in Essential Hypertension. *JASN*, 17 (4) suppl 2, S61-S63, 2006.
32. **Mountokalakis TD.** The renal consequences of arterial hypertension, *Kidney Int*, 51: 1639-1653, 1997.
33. **Zucchelli P Zucchelli P, Zuccala A.** The diagnostic dilemma of hypertensive nephrosclerosis: the nephrologist's view. *Am J Kidney Dis*, 5 (2): 87-91, 1993.
34. **Coen G, Calabria S, Lai S, et al.** Atherosclerotic ischemic renal disease. Diagnosis and prevalence in an hypertensive and/or uremic elderly population, *BMC Nephrology*, 4: 2, 2003
35. **Wang Y, Chen X, Song Y, Caballero B, Cheskin LJ.** Association between obesity and kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Kidney Int* 73:19-33, 2008.
36. **Bala C.** Riscurile obezității, complicații, comorbiditate. In Hâncu N, Roman G, Vereșiu I A. *Diabetul zaharat, nutriția și bolile metabolice, Tratat 2.* Editura Echinox, Cluj Napoca, 120-122, 2010.

37. **Ruan XZ, Varghese Z, Moorhead JF.** An update on the lipid nephrotoxicity hypothesis. *Nat Rev Nephrol*, 5: 713-21, 2009.
38. **Leong FT, Freeman LJ.** Acute renal infarction. *J R Soc Med*, 98(3): 121–122, 2005.
39. **Faronato PP , Maioli M , Tonolo G , et al.** Clustering of albumin excretion rate abnormalities in caucasian patients with NIDDM. *Diabetologia*, 40: 816-23, 1997.
40. **McCrimmon RJ, Ryan CM, Frier BM.** Diabetes and cognitive dysfunction. *Lancet*, 379 (9833): 2291-99, 2012.
41. **Drawz PE, MD, Goswami P, Azem R , Babineau DC, Rahman M.** A simple tool to predict end-stage renal disease within 1 year in elderly adults with advanced chronic kidney disease. *J Am Geriatr Soc*, 61(5):762-768, 2013
42. **Thomas MC, Weekes AJ, Broadley OJ, Cooper ME.** The assessment of kidney function by general practitioners in Australian patients with type 2 diabetes (NEFRON-2). *Med J Aust*, 185(5):259-62, 2006.