

UNIVERSITATEA OVIDIUS
ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE APLICATE
DOMENIUL BIOLOGIE/BIOCHIMIE

REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

STUDIUL UNOR MARKERI BIOCHIMICI ÎN DIABET ȘI BOLILE ASOCIATE

Conducător științific:

Prof. Univ. Dr. CS I Roșoiu Natalia

Membru Titular al Academiei Oamenilor de Știință din Romania

Doctorand:

Damache (Gheorghiu) Georgiana

CONSTANȚA

-2016-

CUPRINS

LISTĂ DE ABREVIERI	5
SCOPUL ȘI OBIECTIVELE LUCRĂRII	8

PARTEA I – STADIUL CUNOAȘTERII

CAPITOLUL I – Perturbări ale metabolismului intermediar în diabetul zaharat.....	11
1.1 Glucidele din organismul uman	11
1.1.1 Interpretarea valorilor patologice ale glicemiei	13
1.2 Insulina.....	14
1.2.1 Insulina și metabolismul glucidic	15
1.2.2 Insulina și metabolismul lipidic	16
1.2.3 Insulina și metabolismul protidic	17
CAPITOLUL II – Diabetul	18
2.1 Definiție.....	18
2.2 Clasificare etiologică.....	19
2.3 Factori de risc	20
2.3.1 Diabetul zaharat de tip 1	20
2.3.2 Diabetul zaharat de tip 2	22
2.3.3 Diabetul gestațional.....	23
2.3.4 Alte tipuri de diabet.....	23
2.4 Patogeneză.....	24
2.4.1 Etiopatologia diabetului zaharat de tip 1.....	24
2.4.2 Etiopatologia diabetului zaharat de tip 2.....	25
2.4.3 Patofiziologia diabetului gestațional	25
2.4.4 Diabetul LADA.....	26
2.4.5 Diabetul MODY	26
2.5 Criterii de diagnosticare	27
2.6 Epidemiologie	28
CAPITOLUL III – Screeningul complicațiilor metabolice acute și cronice în diabet.....	32
3.1 Complicații acute metabolice.....	32
3.1.1 Coma diabetică cetoacidozică	32
3.1.2 Coma hiperosmolară fără cetoacidoză	33

3.1.3 Acidoza lactică.....	33
3.1.4 Hipoglicemia.....	34
3.2 Complicații cronice metabolice.....	36
3.2.1 Neuropatia diabetică.....	36
3.2.2 Retinopatie diabetică	38
3.2.3 Riscul cardiovascular	40
3.2.4 Nefropatie diabetică	44
3.2.5 Arteriopatia diabetică.....	47
3.2.6 Piciorul diabetic	51
3.2.7 Gangrena diabetică.....	54
3.2.8 Osteopenia diabetică	56
CAPITOLUL IV – Stresul oxidativ.....	58
4.1 Speciile reactive ale oxigenului și azotului, în diabetul zaharat	59
4.2 Sisteme de apărare celulară.....	62
4.2.1 Enzime antioxidante.....	62

PARTEA II – CONTRIBUȚII PERSONALE

CAPITOLUL V – Materiale și metode.....	67
5.1 Studiul metabolismului glucidic.....	67
5.1.1 Glucoza serică.....	68
5.1.2 Hemoglobină glicată.....	69
5.2 Studiul profilului lipidic	69
5.2.1 Colesterol total.....	70
5.2.2 HDL-colesterol	71
5.2.3 LDL-colesterol.....	72
5.2.4 Trigliceride	72
5.2.5 Index aterogen	72
5.3 Studiul profilului funcțional renal	73
5.3.1 Creatinina serică	74
5.3.2 Ureea serică.....	74
5.3.3 Rata filtrării glomerulare	74
5.4 Studiul statusului antioxidant.....	75
5.1.5 Status antioxidant total	76

5.5 Studiul acidului sialic	77
5.5.1 Acidul sialic	78
5.6 Studiul activității peroxidazice și esterazice a hemoglobinei	79
5.6.1 Izolarea eritrocitelor din sângele periferic	80
5.6.2 Determinarea hemoglobinei libere cu reactiv Drabkin	81
5.6.3 Activitatea peroxidazică a hemoglobinei	82
5.6.4 Activitatea esterazică a hemoglobinei	83
5.7 Studiul modificărilor oxidative ale proteinelor și lipidelor membranei eritrocitare	84
5.7.1 Obținerea fantomelor eritrocitare	85
5.7.2 Determinarea concentrației proteice prin metoda Bradford	86
5.7.3 Dozarea grupărilor tiol proteice	87
5.7.4 Determinarea nivelului de malondialdehidă	88
5.8 Analize statistice	89
CAPITOLUL VI – Rezultate și discuții	90
6.1 Investigare metabolism glucidic	90
6.2 Estimare risc cardiovascular	95
6.3 Profil funcțional renal	103
6.4 Statusul antioxidant	110
6.5 Noi markeri biokimici in diabet	115
CONCLUZII	132
PERSPECTIVE	135
BIBLIOGRAFIE	136

SCOPUL ȘI OBIECTIVELE LUCRĂRII

Diabetul zaharat (DZ) reprezintă o maladie metabolică de largă răspândire, situându-se în incidența sa după bolile cardiovasculare și cancer.

Întreaga lume se confruntă cu o pandemie a diabetului zaharat tip 2, datorată occidentalizării modului de viață, îmbătrânirii populației și urbanizării, care au drept consecințe modificări ale alimentației, adoptarea unui stil de viață sedentar și dezvoltarea obezității.

Prevalența diabetului zaharat diferă semnificativ în funcție de populația studiată, vârstă, sex, statutul socio-economic și stilul de viață. Predicțiile pentru anul 2040 sunt îngrijorătoare și conform aprecierilor Federației Internaționale pentru Diabet, prevalența diabetului va atinge 11,4 % din populația globului (642 milioane indivizi). Un aspect important, ce s-a realizat în ultimii ani, a fost reprezentat de investigarea atentă a populației și îmbunătățirea metodelor de diagnostic. Cu toate acestea, există cel puțin 30% din cazuri cu DZ tip 2 nediagnosticat. Diabetul zaharat de tip 2 reprezintă 80-90% din totalitatea cazurilor de diabet zaharat și este mai frecvent întâlnit la persoanele supraponderale sau obeze. Studiile arată faptul că în momentul diagnosticului, mai mult de jumătate din pacienți prezintă una sau mai multe complicații cronice ale diabetului.

O persoană cu diabet zaharat suportă costuri medicale de două până la cinci ori mai mari decât cele ale unei persoane non-diabetice. Organizația Mondială a Sănătății estimează că până la 15% din bugetele anuale de sănătate sunt cheltuite pe complicații asociate diabetului. Costurile economice și sociale ridicate de diabetul zaharat tip 2 și prevalența în creștere este un caz convingător pentru a iniția prevenirea acesteia. Intervenția înainte de debutul diabetului zaharat tip 2 ar putea fi singura modalitate de a preveni complicațiile. De aceea, an de an, la nivel mondial tot mai multe studii de cercetare au ca scop descoperirea și punerea în practică a inovațiilor medicale legate de prevenirea, îmbunătățirea calității vieții pacientului sau vindecare acestuia.

Diabetul zaharat este asociat cu un număr mare de complicații cronice al căror rezultat final este diminuarea calității vieții și mortalitatea prematură. Diagnosticarea și tratamentul precoce reprezentând strategia propusă pentru minimalizarea complicațiilor dobândite odată cu durată bolii.

Prima parte a acestei teme de cercetare are ca obiectiv analiza parametrilor biochimici asociați cu: metabolismul glucidic, riscul cardiovascular și profilul funcțional renal la pacienții cu diabet tip 2, cu scopul de a identifica corelații între maladie și incidența bolilor asociate DZ tip 2. Am în vedere cele trei profile funcționale, deoarece la acest nivel se regăsesc cele mai multe complicații asociate cu diabetul de tip 2.

A doua parte a aceste lucrări își propune îmbogățirea stadiului actual al cunoașterii cu privire la acest subiect prin identificarea de noi parametrii cu un potențial rol de markeri biochimici în diabet. Acești biomarkeri sunt acidul sialic, activitatea peroxidazică și esterazică a hemoglobinei, grupările thiol și peroxidarea lipidică pentru a demonstra prezența modificărilor funcționale, având ca scop dezvoltarea terapiilor folosite în aceasta maladie pentru îmbunătățirea calității vieții bolnavului și ameliorarea diagnosticului.

Cuvinte cheie: diabet, markeri biochimici, boli asociate, stres oxidativ

PARTEA I - STADIUL CUNOAȘTERII

Diabetul descrie un grup de boli metabolice cu etiologie multiplă, caracterizate prin hiperglicemie și perturbări ale metabolismului glucidic, lipidic și proteic. Acestea se datorează unei insuficiențe absolute sau relative în secreția de insulină de către celulele β ale pancreasului endocrin, sau a rezistenței tisulare la acțiunea insulinei. Hiperglicemia cronică din diabet este asociată în timp cu distrucții și disfuncții ale diferitelor organe, în mod special ochii, rinichii, nervii, inima și vasele de sânge (American Diabetes Association, 2013).

Diabetul se poate prezenta cu simptome caracteristice precum polidipsie, poliurie, polifagie, tulburări de vedere și modificarea greutateii corporale. Complicațiile acute diabetice precum hiperglicemie cu cetoacidoză sau hiperglicemie necetozică hiperosmolară, pot genera o stare de contracție musculară susținută, comă diabetică și în absența răspunsului la tratament, moartea.

Simptomele care pot indica prezența diabetului pot fi absente sau severe și pot provoca modificări morfologice și funcționale. Aproximativ o treime din pacienții care suferă de diabet prezintă simptomele caracteristice ale bolii, restul fiind diagnosticați întâmplator datorită efectelor pe termen lung. Progresul bolii determină dezvoltarea progresivă a complicațiilor specifice precum retinopatie sau potențială orbire, nefropatie ce poate conduce la insuficiență renală, neuropatie și ulcerații ale piciorului sau disfuncții sexuale. Persoanele care dezvoltă diabet prezintă un risc ridicat al bolilor cardiovasculare, cerebrovasculare și afecțiuni vasculare periferice (World Health Organization, 1999).

Clasificarea diabetului cuprinde patru categorii clinice:

- Diabet zaharat de tip 1 (rezultat în urma distrucție masive a celulelor β pancreatice, având ca și consecința un deficit absolut de insulină)
 - autoimun
 - idiopatic
- Diabet zaharat de tip 2 (datorat rezistenței la insulină sau/și deficitului relativ de insulină)
 - cu predominanța insulinorezistenței asociată cu deficit relativ de insulină
 - cu predominanța deficitului secretor asociat cu insulinorezistență
- Alte tipuri specifice de diabet (defecte genetice ale funcției celulei β pancreatice (MODY – maturity onset diabetes of the young), defecte genetice care împiedică secreția insulinei (LADA – Latent autoimmune diabetes in adults))
- Diabet gestațional (valori glicemice crescute în timpul sarcinii, care de cele mai multe ori revin la normal postpartum)

COMPLICAȚIILE ACUTE ȘI CRONICE ALE DIABETULUI

Una dintre cele mai răspândite boli ale sistemului endocrin, diabetul este o afecțiune în care pancreasul nu produce o cantitate suficientă a hormonului insulină sau organismul nu utilizează în mod eficient insulina pe care o produce. Deoarece insulina este esențială în a ajuta organismul la transformarea glucidelor în energie, pot exista consecințe grave în cazul în care diabetul este nediagnosticat și netratat.

Complicațiile acute metabolice sunt rareori pure, cel mai adesea sunt „forme mixte”, ca de exemplu o cetoacidoză asociată cu hiperosmolaritate sau o acidoză lactică asociată cu cetoză și hiperosmolaritate.

Diabetul zaharat neglijat poate duce în timp la apariția unor complicații cronice cum ar fi: neuropatia diabetică (afectarea nervilor periferici și/sau a sistemului nervos vegetativ), retinopatia diabetică (afectarea retinei care, netratată, poate determina orbirea), nefropatia diabetică (afectarea rinichilor, care în cazuri cronice avansează la insuficiență renală și dializă), arteriopatia diabetică (aceasta, împreună cu neuropatia pot conduce la gangrena diabetică ce poate necesita amputație la nivelul membrelor inferioare) etc.

SPECIILE REACTIVE ALE OXIGENULUI ȘI AZOTULUI, ÎN DIABETUL ZAHARAT

Stresul oxidativ, definit ca o tulburare a echilibrului între producerea de specii reactive de oxigen (radicalii liberi) și mijloacele de apărare antioxidante, este deseori asociat cu posibilitatea producerii leziunilor tisulare în diabetul zaharat (Betteridge, 2000). Celulele sunt deosebit de sensibile la ROS, deoarece acestea dispun de concentrații scăzute de enzime cu rol antioxidant (catalaza, glutathion peroxidaza și superoxid dismutaza) care nu reușesc să contracareze stresul oxidativ (Tiedge și colab., 1997).

Cele mai recente studii de specialitate sugerează faptul că, generarea excesivă a speciilor reactive de oxigen și de azot reprezintă un component cheie în dezvoltarea complicațiilor generate de hiperglicemie. Supraproducția și/sau eliminarea inefficientă a speciilor reactive perturbă homeostazia celulară favorizând apariția disfuncțiilor vasculare, leziunilor la nivelul membranei celulare datorate modificării proteinelor și lipidelor de la acest nivel, dar și deteriorarea acizilor nucleici (Bandeira și colab., 2013).

PARTEA II - CONTRIBUȚII PERSONALE

An de an, la nivel mondial tot mai multe studii de cercetare au ca scop descoperirea și punerea în practică a inovațiilor medicale legate de prevenirea, îmbunătățirea calității vieții pacientului sau vindecarea acestuia.

Cercetatorii au disecat cu migală această boală complicată cauzată de distrugerea celulelor β pancreatice producătoare de insulină. În ciuda progreselor și înțelegerii mecanismelor care stau la baza bolii diabetice, există o lacună în ceea ce privesc terapiile eficiente.

Managementul diabetului zaharat a evoluat în ultimul deceniu și include inovații precum:

- insulina biosintetică umană fabricată prin tehnologie ADN recombinant folosind ca organism de producere celulele de *Escherichia coli*
- terapia prin infuzie continuă de insulină utilizând pompa de insulină, programată să descarce continuu, subcutanat, cantitatea de insulină necesară 24 de ore din 24
- tratamentul inovativ de înlocuire a celulelor β prin transplatul de insule pancreatice de la un organ donor la unul receptor
- implantul celulelor stem modificate genetic

MATERIALE ȘI METODE

Studiile de cercetare efectuate pentru teza de doctorat s-au realizat în colaborare cu centre medicale de diagnostic și/sau tratament particulare și de stat, dar și cu Institutul Național de Cercetare – Dezvoltare Marină “Grigore Antipa” Constanța sau Facultatea de Biologie București.

Probele au fost analizate folosind analizorul automat Cobas Integra 400 plus – Roche Diagnostics și reactivi specifici acestuia, analizorul automat Beckman Coulter Synchron CX7, folosind protocolul și reactivii indicați de producător (Diamond Diagnostics), spectrofotometrul UV-VIS Specord 205, spectrofotometrul UV-VIS PerkinElmer LAMBDA 35 și analizorul automat InnovaStar și reactivii indicați de producător (Diagnostic Systems).

Niciun pacient nu a fost inclus de două ori în cadrul studiului. Studiul a fost aprobat de către Consiliul de Etică a Universității Ovidius Constanța, I.O.S.U.D și centrele medicale cu care s-a colaborat.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

1. Investigare metabolism glucidic

Studiul efectuat relevă faptul că nivelul glucozei serice (Fig. 1) și al hemoglobinei glicate (Fig. 2) cresc odată cu vârsta și nu diferă semnificativ în funcție de gen. Rezultatele sunt în ipoteza prevalenței diabetului zaharat la bărbați ca fiind mai pronunțat decât la femei, iar complicațiile metabolice asociate acestei boli cronice ca fiind mai frecvente la femei odată cu înaintarea în vârstă.

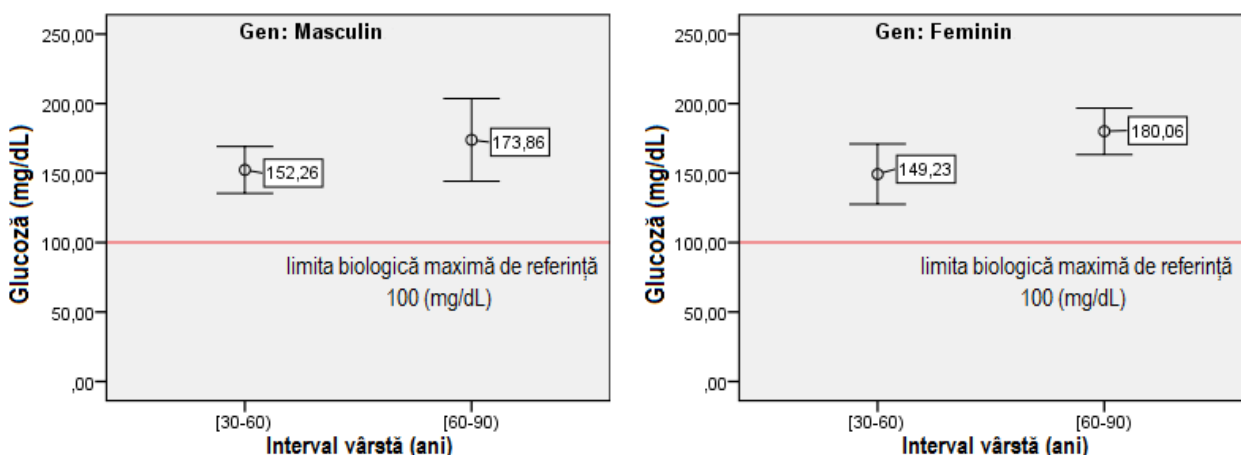


Figura 1: Monitorizarea glucozei serice în screening-ul diabetului zaharat folosind ca și criteriu de comparație grupe de vârstă

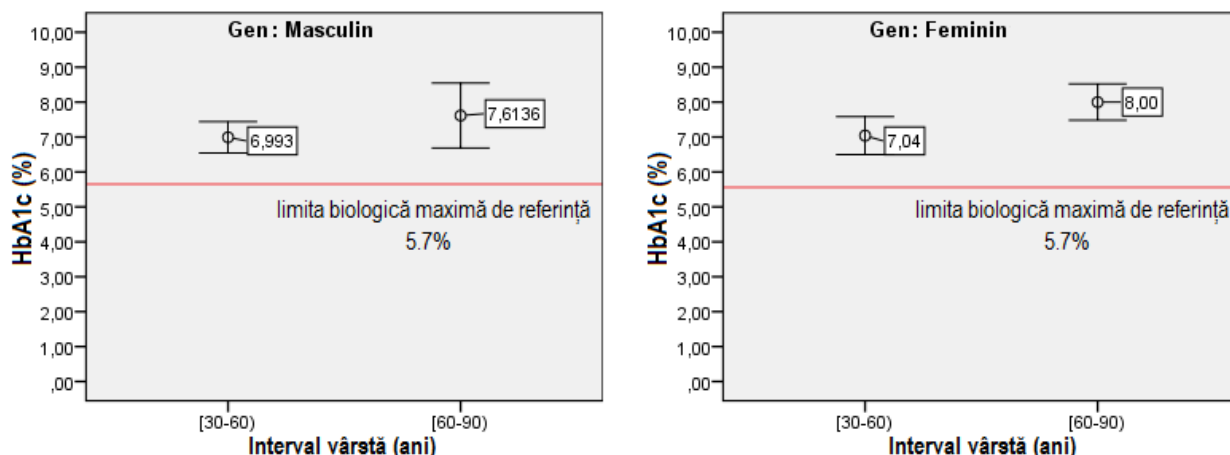


Figura 2: Monitorizarea hemoglobinei glicate în screening-ul diabetului zaharat folosind ca și criteriu de comparație grupe de vârstă. Valorile au fost exprimate ca medii cu deviații standard (SD)

2. Estimare risc cardiovascular

Rezultatele prezentului studiu sugerează creșteri semnificative ale colesterolului total, LDL-colesterol și trigliceride, dar și scăderea HDL-colesterol în rândul pacienților cu diabet comparativ cu subiecții sănătoși (Tabelul 1). Folosind ca și criterii de comparație limitele biologice de referință și grupele de vârstă, nivelul colesterolului total, LDL-colesterol și trigliceridelor au crescut, iar nivelul HDL-colesterol scade odată cu înaintarea în vârstă și durata bolii diabetice.

Parametrii	Gen	Grup			
		Control		T2DM	
		Medie	Deviație Std.	Medie / Valoare p	Deviație Std.
TC (mg/dL)	Masculin	170.88	13.97	239.01 ($p < 0.000$)	35.28
	Feminin	172.34	16.56	245.49 ($p < 0.000$)	37.09
HDL-C (mg/dL)	Masculin	57.46	12.018	36.44 ($p < 0.000$)	4.33
	Feminin	54.76	10.75	38.42 ($p < 0.000$)	4.53
LDL-C (mg/dL)	Masculin	104.65	13.57	158.65 ($p < 0.000$)	31.96
	Feminin	107.75	14.78	163.75 ($p < 0.000$)	36.69
TG (mg/dL)	Masculin	82.75	25.84	265.21 ($p < 0.000$)	83.71
	Feminin	86.78	36.47	255.09 ($p < 0.000$)	89.29
AI	Masculin	3.08	0.60	6.64 ($p < 0.000$)	1.25
	Feminin	3.23	0.52	6.49 ($p < 0.000$)	1.36

Tabel 1: Compararea parametrilor biochimici între grupurile Control și T2DM pentru ambele genuri studiate

Studiul de corelație privind indexul aterogen și vârstă (Fig. 3) susține prin rezultatele obținute ipoteza conform căreia diabeticii sunt predispuși aterosclerozei accelerate și riscului crescut de a dezvolta boli cardiovasculare odată cu înaintarea și vârstă și creșterea duratei bolii diabetice.

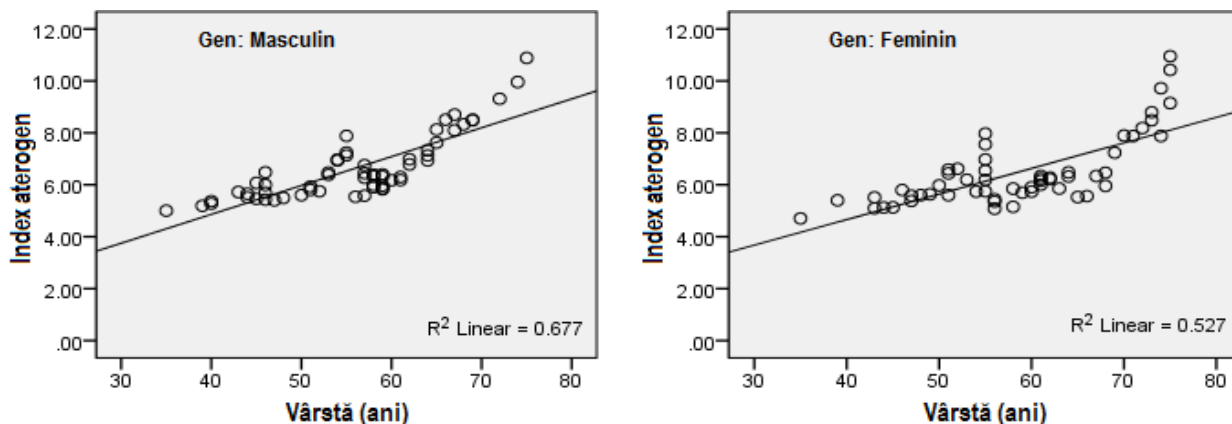


Figura 3: Coeficientul de corelație Pearson al variabilelor studiate Index aterogen și vârstă (ani) la pacienții cu T2DM - genul masculin și feminin

3. Profil funcțional renal

Evaluarea funcției renale la bolnavii cu diabet atrage atenția asupra modificărilor de concentrație a celor doi biomarkeri, creatinină și uree serică, ce semnalează perturbarea ratei de filtrare glomerulară (GFR). Astfel, screening-ul creatininei și ureei serice la pacienți diabetici relevă deteriorarea funcției nefronilor și scăderea capacității de filtrare a rinichiului conducând astfel, la acumularea de deșeuri în cadrul sistemului; gradul de disfuncție renală crescând odată cu înaintarea în vârstă și durata bolii, fără diferențe semnificative între genul masculin și feminin.

Majoritatea pacienților monitorizați prezintă leziuni renale, cu pierderea ușoară a funcției renale în care rata filtrării glomerulare scade la jumătate cu înaintarea în vârstă, la ambele genuri studiate (Fig. 4).

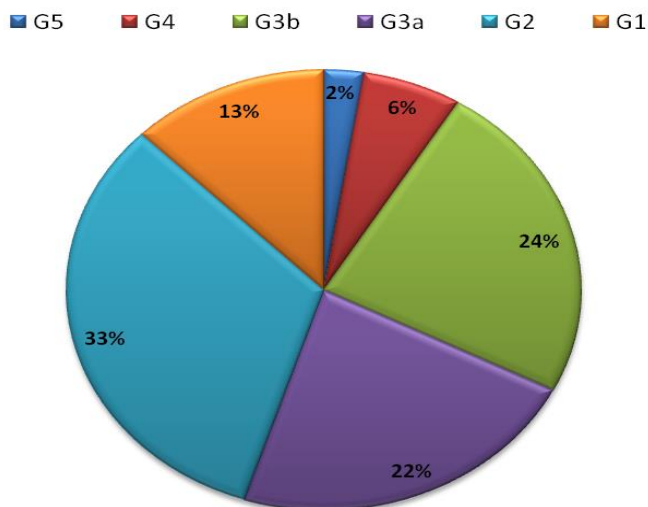


Figura 4: Monitorizarea pacienților cu diabet de tip 2 aparținând ambelor sexe în vederea stabilirii stadiului de boală cronică de rinichi

Stadiile GFR, conform ghidului National Kidney Foundation Resource Guide (www.kidney.org/atoz/content/gfr) sunt următoarele:

- G1** ≥ 90 ml/min/1.73 m²: Funcție renală normală
- G2** 60-89 ml/min/1.73 m²: Leziuni renale cu pierderea ușoară a funcției renale
- G3a** 45-59 ml/min/1.73 m²: Pierderea ușoară până la moderată a funcției renale
- G3b** 30-44 ml/min/1.73 m²: Pierderea moderată până la severă
- G4** 15-29 ml/min/1.73 m²: Scăderea severă a funcției renale
- G5** <15 ml/min/1.73 m²: Insuficiență renală

4. Statusul total antioxidant

Rezultatele capacității totale antioxidante a pacienților cu diabet de tip 2, susțin ipoteza conform căreia, scăderea TAS este atribuită incapacității sistemelor antioxidante exogene și endogene de a neutraliza radicații liberi și implicit stresul oxidativ. Hiperglicemia influențează generarea radicalilor liberi și implicit depleția antioxidantilor favorizând creșterea stresului oxidativ la pacienții cu diabet de tip 2 cu o durată a bolii de peste 4-6 ani.

Scăderea capacității antioxidante odată cu înaintarea în vârstă (Fig. 5) se datorează progresiei bolii și apariției complicațiilor asociate diabetului de tip 2.

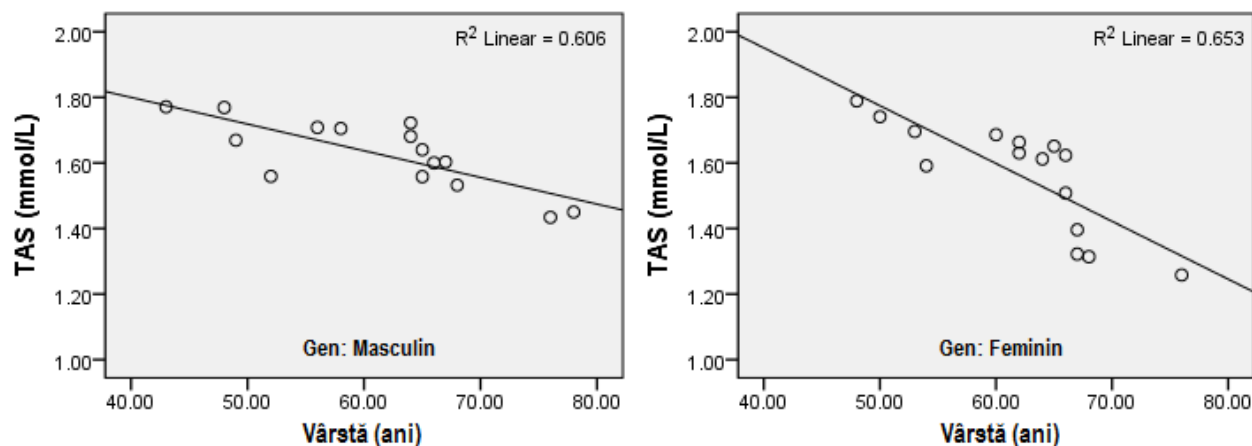


Figura 5: Coeficientul de corelație Pearson al variabilelor studiate
TAS (mmol/L) și Vârstă (ani) la pacienții cu T2DM

Având în vedere rezultatele prezentate, statusul total antioxidant ar putea fi luat în considerare ca marker al patogenezei complicațiilor diabetului de tip 2. Testul poate detecta complicațiile precoc, acest lucru crescând longevitatea și calitatea vieții pacienților cu diabet de tip 2.

În cadrul acestei teze de doctorat s-au investigat cinci noi markeri biochimici (acid sialic, activitatea peroxidazică și esterazică a hemoglobinei, grupările tiol și peroxidarea lipidică) utilizați în patologia diabetului zaharat cu scopul de a prevenii boala sau complicațiile generate de acesta.

5. Noi markeri biochimici in diabet

Acidul sialic este marker al bolilor cardiovasculare la diabetici asociat cu prezența complicațiilor microvasculare.

Concentrația mare a acidului sialic din endoteliul vascular și leziunile tisulare extinse provocate de complicațiile microvasculare asociate diabetului, explică creșterea serică ca fiind o consecință a creșterii permeabilității vasculare datorate deteriorării endoteliului vascular și eliberarea acidului sialic în circulația generală. O altă explicație ar putea fi dată de răspunsul de fază acută care implică stimularea glicoproteinelor de fază acută care au la capătul *N*-terminal un acid sialic.

Determinarea acidului sialic în funcție de grupele de vârstă, a arătat dublarea concentrației odată cu înaintarea în vârstă. Îmbătrânirea fiind un proces de declin al majorității funcțiilor biologice care atrage după sine complicațiile asociate diabetului.

Hiperglicemia cronică asociată cu concentrații crescute de acid sialic (Fig. 6) și prelungirea duratei bolii diabetice joacă un rol major în inițierea complicațiilor vasculare diabetice prin modificări metabolice și structurale.

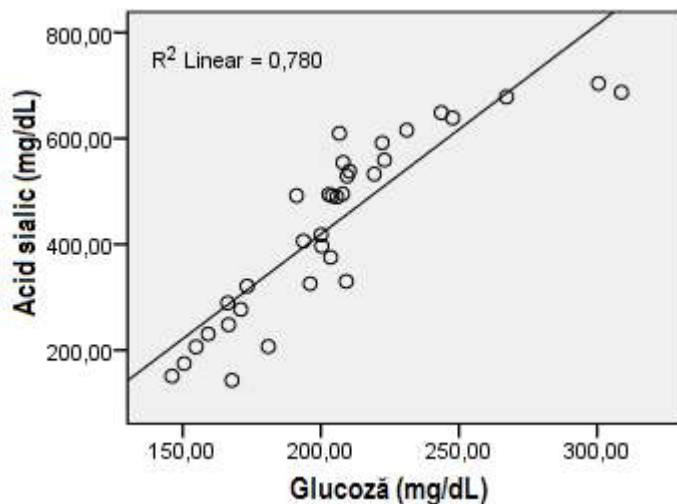


Figura 6: Coeficientul de corelație Pearson al variabilelor studiate Acid sialic (mg/dL) și Glucoză (mg/dL) la pacienții cu T2DM

Diabetul zaharat este boala cronică, caracterizată prin tulburări complexe de metabolism datorate nivelului crescut al glucozei în sânge. Această maladie cu caracter epidemic este asociată cu complicații care afectează de la organe până la elementele figurate ale sângelui (eritrocite), și progresează odată cu înaintarea în vârstă.

Studiile efectuate de-a lungul timpului de către cercetători au demonstrat că, în cazul diabeticilor, proteinele citoscheletale sunt puternic glicozilate. Hematiile care dobândesc defecte intracelulare în timpul stadiilor de dezvoltare, sunt îndepărtate prematur din circulație. Astfel, datorită dezechilibrului arhitectural al membranei eritrocitare și compromiterii funcțiilor eritrocitelor, se poate explica scăderea concentrației de **hemoglobină liberă** la pacienții diabetici (Fig. 7).

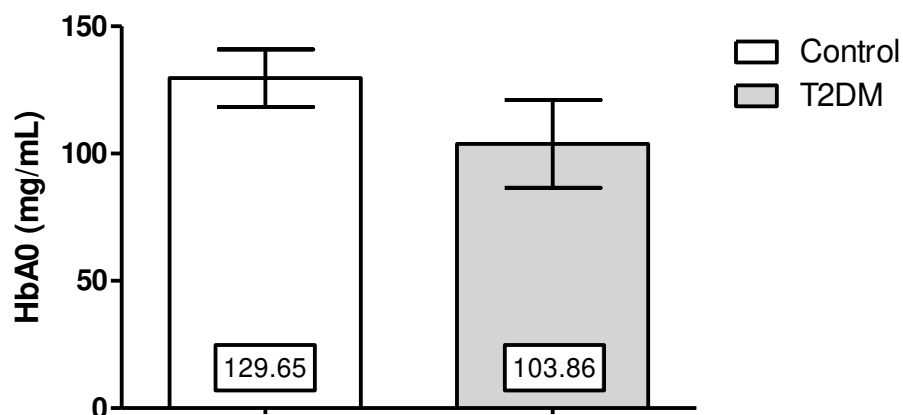


Figura 7: Hemoglobina liberă (mg/dL) a pacienților cu diabet de tip 2 (T2DM) și a subiecților sănătoși (Control). Valorile au fost exprimate ca medii cu deviații standard (SD)

Studiul **activității peroxidazice (PA) a hemoglobinei** la pacienții cu diabet de tip 2 demonstrează prezența proceselor redox și inflamatorii în sângele diabeticilor, determinând activarea și amplificarea activității peroxidazice a hemoglobinei (Fig.8). Aceste rezultate sunt în concordanță cu date din literatura de specialitate care confirmă creșterea PA în diabet de tip 2 și boala coronariană. Aceste maladii fiind, de asemenea asociate cu tulburări în deformabilitatea hematiilor, reologia sângelui și stresul oxidativ.

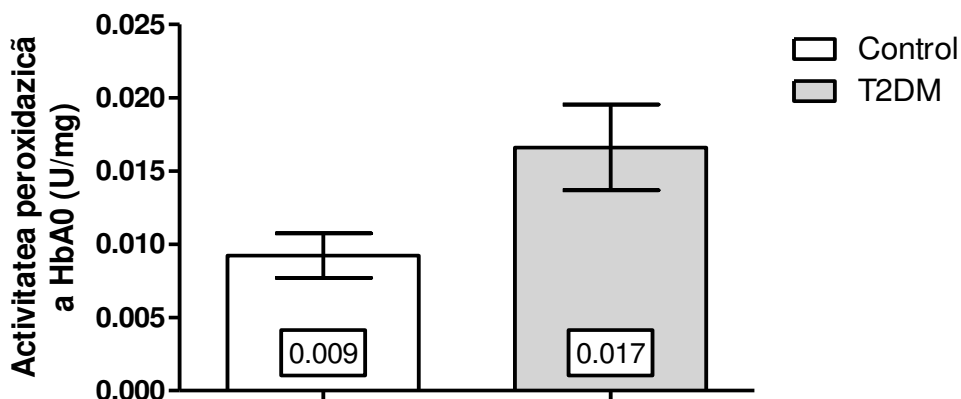


Figura 8: Activitatea peroxidazăică a hemoglobinei (U/mg) a pacienților cu diabet de tip 2 (T2DM) și a subiecților sănătoși (Control). Valorile au fost exprimate ca medii cu deviații standard (SD)

Activitatea esterazică a hemoglobinei se amplifică în boala diabetică și crește odată cu progresia bolii (Fig. 9). Modificarea indusă prin glicarea proteinelor influențează activitatea esterazică a hemoglobinei prin creșterea afinității pentru substrat și a vitezei de reacție. Având în vedere concentrația mare a hemoglobinei din eritrocite, activitatea esterazică este semnificativ crescută în diabetul zaharat necontrolat, datorită gradului ridicat de glicare al hemoglobinei.

Creșterea activității esterolitice în diabetul zaharat, poate fi asociată cu modificări de ordin vascular, afectând structura și funcția eritocitară.

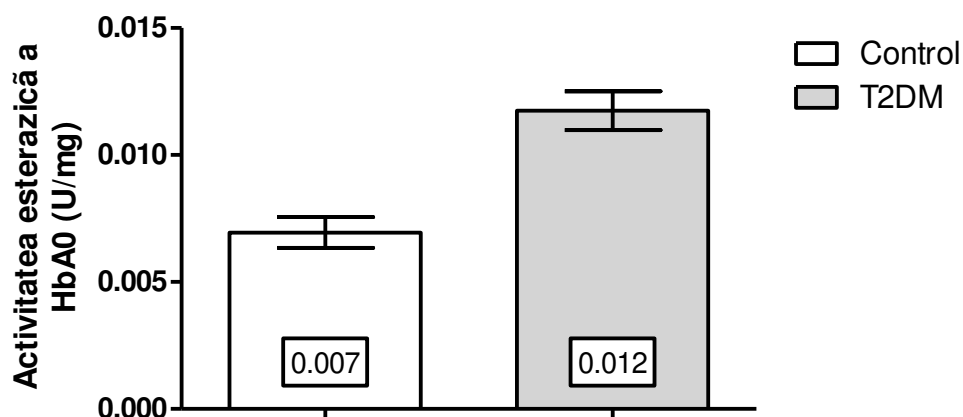


Figura 9: Activitatea esterazică a hemoglobinei (U/mg) pacienților cu diabet de tip 2 (T2DM) și a subiecților sănătoși (Control)
Valorile au fost exprimate ca medii cu deviații standard (SD)

În urma evaluării nivelului de **grupări tiol proteice** la nivelul fantomelor eritrocitare, s-a constatat scăderea statusului grupărilor tiol proteice în condiții de stres oxidativ la pacienți cu diabet comparativ cu indivizii sănătoși (Fig. 10). Explicația care stă la baza observațiilor făcute este legată de neutralizarea radicalilor liberi generați datorită hiperglicemiei existente în boala diabetică prin contribuția tiolilor proteici la diminuarea stresului oxidativ. Grupările tiol prin oxidarea proprie împiedică atacul radicali liberi.

Oxidarea grupărilor sulfhidril existente la nivelul membranei eritrocitare induce modificări de micro-elasticitate sau deformabilitate care determină distrucția prematură a eritrocitelor și stimularea forțată a eritropoezei.

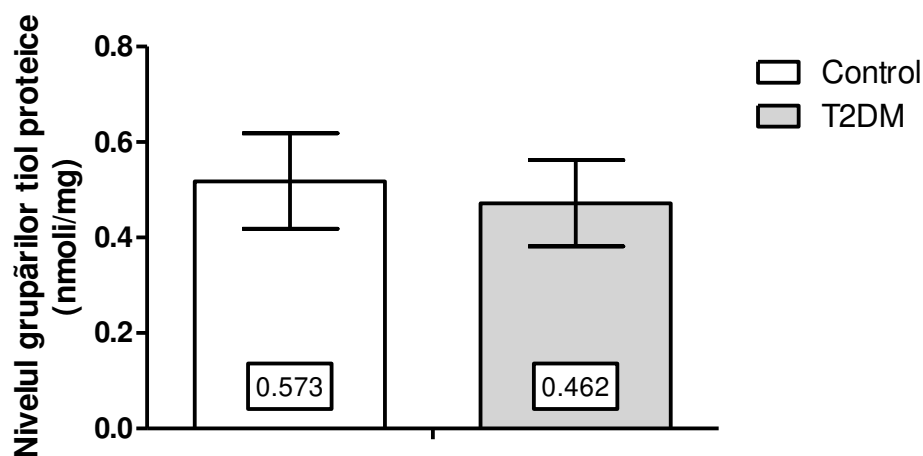


Figura 10: Nivelul grupărilor tiol proteice (nmoli/mg) exprimat la nivelul fantomelor eritrocitate ale pacienților cu diabet de tip 2 (T2DM) și ale subiecților sănătoși (Control)

Analiza nivelului de *peroxidare lipidică* al membranelor eritrocitare ale pacienților cu diabet de tip 2 a demonstrat degradarea oxidativă a membranelor celulare lipidice în prezența speciilor reactive de oxigen. Acest lucru a fost evaluat prin creșterea semnificativă a concentrației de malondialdehidă la diabetici comparativ cu indivizii sănătoși (Fig. 11). Gradul de degradare al membranei eritrocitare, datorat peroxidării lipidice, se corelează cu nivelul crescut al HbA1c și în cazul studiului de față cu concentrația glucozei serice.

Peroxidarea lipidică a structurilor celulare, este o consecință a creșterii concentrației speciilor reactive de oxigen, acest lucru contribuind la amplificarea procesului aterosclerotic și dezvoltarea complicațiilor microvasculare asociate diabetului.

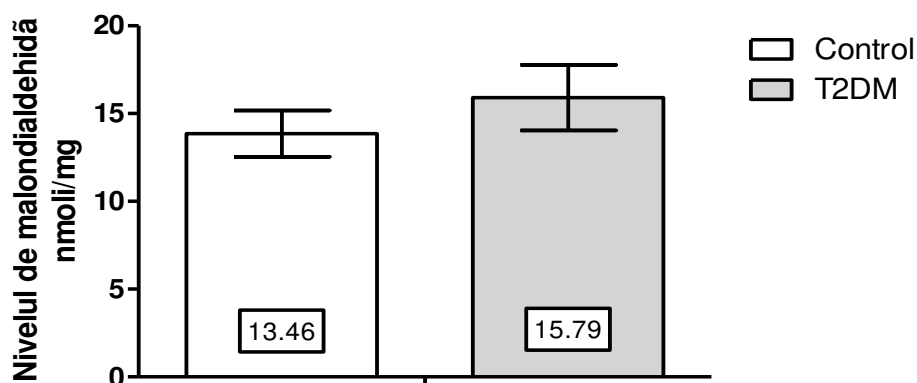


Figura 11: Nivelul de malondialdehidă (nmoli/mg) exprimat la nivelul fantomelor eritrocitate ale pacienților cu diabet de tip 2 (T2DM) și subiecților sănătoși (Control)

CONCLUZII

În concluzie, managementul defectuos al diabetului ce presupune persistența hiperglicemiei timp îndelungat atrage după sine apariția proceselor nocive asociate diabetului precum: amplificarea proceselor redox și inflamatorii, glicarea proteinelor și modificări de ordin vascular ce afectează structura și funcția eritrocitară.

Toți parametrii studiați își modifică concentrația odată cu progresia bolii și ca atare, pot fi utilizați cu succes ca test suplimentar în monitorizarea diabetului asociat cu stres oxidativ și tulburări în funcțiile eritrocitare sau reologia sângelui. Markerii studiați pot detecta complicațiile precoce, acest lucru crescând longevitatea și calitatea vieții pacienților cu diabet de tip 2.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. American Diabetes Association (2013) Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.*; 36: S67-S74
2. World Health Organisation Department of Noncommunicable Disease Surveillance, Geneva (1999) Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. *WHO Part 1: 2*
3. Betteridge D.J. (2000) What is oxidative stress? *Metabolism.*; 49(2 Suppl 1): 3-8
4. Bandeira S., Fonseca L.J., Guedes G., Rabelo R.A., Goulart M.O.F., Vasconcelos S.M.L. (2013) Oxidative stress as an underlying contributor in the development of chronic complications in diabetes mellitus. *Int. J. Mol. Sci.*; 14: 3265-3284
5. Tiedge M., Lortz S., Drinkgern J., Lenzen S. (1997) Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin producing cells. *Diabetes.* 46: 1733–1742

LUCRĂRI ELABORATE DE AUTOR ÎN DOMENIUL TEZEI DE DOCTORAT

ARTICOLE COTATE ISI

1. **Damache Georgiana**, Roșioru Daniela, Petcu Lucian, Stoian Gheorghe, Roșoiu Natalia. *Sialic acid marker of microangiopathic complications in romanian type 2 diabetic patients*. AARJMD 2:(6) 2015, 153-161, ISSN:2319-2801

Factori de impact: Index Copernicus (ICV) - 5.05; ISI - 1.023 (International Scientific Indexing); ISRA - 2.015 (International Society For Research Activity)

http://www.asianacademicresearch.org/2015_abstract/november_md_2015/15.pdf

ARTICOLE COTATE B+

1. **Georgiana Damache**, Lucian Petcu, Gabriela Vasile, Natalia Roșoiu. *Correlations of fasting plasma glucose and hemoglobin A_{1c} based on gender and age in patients with type 2 diabetes mellitus and healthy individuals* Archives of the Balkan Medical Union, Vol. 49, Nr. 4, 2014, 439-444, ISSN: 0041-6940

*Revistă Internațională cotate B⁺ (BDI) indexată în baze de date internaționale *EMBASE / Excerpta Medica, Chemical Abstracts, SCOPUS*; Revista trimisă spre indexare ISI și Pup-Med www.umbalk.org

2. **Georgiana Damache**, Adina Petcu, Mihaela Bașa, Natalia Roșoiu. *Lipid profile in patients with type 2 diabetes mellitus*. Archives of the Balkan Medical Union, Vol. 50, Nr. 2, 2015, 225-231, ISSN: 0041-6940

*Revistă Internațională cotate B⁺ (BDI) indexată în baze de date internaționale *EMBASE / Excerpta Medica, Chemical Abstracts, SCOPUS*; Revista trimisă spre indexare ISI și Pup-Med www.umbalk.org

REZUMATE PUBLICATE LA CONFERINȚE NATIONALE ȘI INTERNAȚIONALE

1. **Georgiana Damache**, Lucian Petcu, Natalia Roșoiu. *Monitorizarea riscului cardiovascular la pacienții cu diabet zaharat de tip 2*. Academia Oamenilor de Știință din România, Sesiunea Științifică de Toamnă, 19-20 Septembrie 2014, Constanța -Prezentare orală
2. **Georgiana Damache**, Gabriela Vasile, Natalia Roșoiu. *The relationship between FPG and HbA_{1c} in type 1 diabetes control*. The 33rd Balkan Medical Week, Archives of the Balkan Medical Union, Vol. 49, Suppl. 1, p 94, 8-11 October 2014, Bucharest, ISSN: 0041-6940
3. **Damache G.**, Rosioru D., Petcu L.C., Stoian G., Roșoiu N. *Sialic acid – risk marker for diabetes complications: Modifications according to gender and age in patients with type 2 diabetes*. FEBS Journal, Volume 282 (Suppliment 1), 40th FEBS CONGRESS “The Biochemical Basis of Life”, July 4-9, 2015, Berlin, Germany, P16-012, p 277
4. **G. Damache**, D. Roșioru, G. Stoian, L. Petcu, N. Roșoiu „*Is sialic acid a predictive marker for diabetic neuropathy?*” International Conference of the Romanian Society of Biochemistry and Molecular Biology, Book of Abstracts, p 82, 17-18 September 2015, ISBN: 978-973-720-605-3
5. **Georgiana Damache**, Roua Gabriela Popescu, Alexandra Mareș, Gheorghe Stoian, Roșoiu Natalia. *Evaluarea profilului lipidic eritrocitar la pacienții cu diabet zaharat de tip 2*. Academia Oamenilor de Știință din România, Sesiunea Științifică de Toamnă, 24 - 26 Septembrie 2015, Iași - Prezentare orală
6. **G. Damache**, R. Popescu, O. Bălănescu, D.M. Roșioru, G. Stoian, N. Roșoiu. *Demonstration of new biochemical markers in diabetic patients*. FEBS Journal, Volume 283 (Suppliment 1), 41st FEBS CONGRESS “Molecular and Systems Biology for a Better Life”, September 3-8, 2016, Ephesus/Kuşadası, Turkey, P-09.04.4-024, p 389
7. **Georgiana Damache**, Lucian Petcu, Mihaela Bașa, Natalia Roșoiu. *De la nefropatie diabetică la insuficiență renală cronică*. Academia Oamenilor de Știință din România, Sesiunea Științifică de Toamnă, 22 - 24 Septembrie 2016, Durău-Neamț - Prezentare orală