



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ

*Peptidul C - corelații clinico-evolutive
în diabetul zaharat tip 1 la copil și adolescent*

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. RADULIAN GABRIELA

Student-doctorand:

GROSU căs. NOVAC CARMEN NICOLETA

2023

Cuprins

<i>Lista lucrări științifice publicate</i>	4
<i>Lista de abrevieri și simboluri</i>	5
Introducere	7
<i>Partea I. Stadiul actual al cunoașterii</i>	
<i>Capitolul 1. Aspecte generale ale diabetului zaharat tip1</i>	14
1.1. Epidemiologie	14
1.2. Genetica DZ tip 1	15
1.3. Stadializarea DZ tip 1	17
1.4. Noi tehnologii în îngrijirea DZ tip 1	19
1.4.1. Dispozitive de administrare a insulinei	21
1.4.2. Infuzia subcutanată continuă de insulină	21
<i>Capitolul 2 Peptidul C</i>	24
2.1. Structură și biosinteză	24
2.2. Efectele celulare ale peptidului C	26
2.2.1. Stimularea activității Na-K ATP- azei	26
2.2.2. Efecte pe sintetaza endotelială a oxidului nitric (eNOS)	27
2.3. Metode de determinare a peptidului C	27
<i>Capitolul 3. Importanța peptidului C</i>	33
3.1. Utilitatea clinică a peptidului C	33
3.2. Evoluția peptidului C în DZ tip 1	35
3.3. Perspective terapeutice în DZ tip 1	41
<i>Partea a II - a. Contribuții personale</i>	
<i>Capitolul 4. Ipoteza de lucru și obiectivele generale</i>	45
<i>Capitolul 5. Metodologia generală a cercetării</i>	48
5.1. Analiza statistică	49
<i>Capitolul 6. Rezultate generale</i>	53
6.1. Distribuția în funcție de mediul de proveniență	53
6.2. Distribuția în funcție de vârsta la debut	53
6.3. Distribuția în funcție de sexul pacientului	55
6.4. Cetoacidoza (CAD) la debutul DZ tip 1	56

6.5.	Distribuția în funcție de istoricul familial de DZ	57
6.6.	Boala infecțioasă acută la debut	58
6.7.	Valoarea peptidului C la debut	59
<i>Capitolul 7. Studiul I - Analiza factorilor care influențează evoluția peptidului C în primii 3 ani de la debutul DZ tip 1</i>		60
7.1.	Ipoteza de lucru și obiective specifice.....	60
7.2.	Metodologia cercetării	62
7.2.1.	Statistică	64
7.3.	Rezultate și discuții	64
7.4.	Concluzii	74
<i>Capitolul 8. Studiul II - Cercetarea evoluției peptidului C în relație cu diverși parametri clinici și biologici după 5 ani de evoluție a DZ tip 1</i>		76
8.1.	Ipoteza de lucru și obiective specifice	76
8.2.	Metodologia cercetării	76
8.2.1.	Statistică	77
8.3.	Rezultate și discuții.....	79
8.3.1.	Durata DZ tip 1 și evoluția peptidului C	80
8.3.2.	Vârsta la debut și evoluția peptidului C	90
8.3.3.	HbA1c și evoluția peptidului C	96
8.3.4.	CAD la debut și evoluția peptidului C	106
8.3.5.	Boala infecțioasă la debut și evoluția peptidului C	111
8.3.6.	Boli autoimune asociate și evoluția peptidului C	111
8.4.	Concluzii	113
8.4.1.	Durata DZ și peptidul C în evoluție	113
8.4.2.	Vârsta la debut și evoluția peptidului C	113
8.4.3.	HbA1c și evoluția peptidului C	113
8.4.4.	CAD la debut și evoluția peptidului C	114
8.4.5.	Asocierea unei infecții la debut și evoluția peptidului C	115
8.4.6.	Asociere unei boli autoimune la debut și evoluția peptidului C	115
<i>Capitolul 9. Studiul III - Remisiunea parțială și corelațiile cu peptidul C</i>		116
9.1.	Ipoteza de lucru și obiective specifice	116
9.2.	Metodologia cercetării	117
9.3.	Rezultate și discuții	119
9.3.1.	Vârsta la debut și remisiunea	119
9.3.2.	Peptidul C și remisiunea	121
9.3.3.	HbA1c și remisiunea	124
9.3.4.	Infecția acută la debut și remisiunea	125
9.3.5.	CAD la debut și remisiunea	126
9.3.6.	Sexul pacientului și remisiunea	131

9.3.7. Boli autoimune asociate și remisiunea	132
9.3.8. Glicemia la momentul diagnosticului și remisiunea	133
9.4. Concluzii	133
<i>Capitolul 10 Concluzii și contribuții personale</i>	136
Bibliografie	144

Partea I. Stadiul actual al cunoașterii

Diabetul zaharat (DZ) reprezintă o problemă majoră de sănătate publică la nivel global, ajungând în prezent sa atingă cote de creștere alarmante. În prezent, în toată lumea există mai mult de o jumătate de miliard de persoane care trăiesc cu această boală [0].

DZ tip 1 este cea mai comună formă de DZ la copil și adolescent. Apariția acestei patologii are la bază un deficit absolut sau semnificativ de insulină cauzat de distrugerea de tip autoimun a celulelor β -pancreatice. Etiologia este una multifactorială, la care concură susceptibilitatea genetică și diverși factori de mediu [2].

Numărul copiilor și adolescenților cu DZ crește alarmant în fiecare an. În 2021, peste 1,2 milioane de copii și adolescenți au DZ tip 1.

În România, conform Registrului Român de Diabet al Copilului, în 2022 incidența DZ tip 1 în rândul copiilor și adolescenților este de 13,8/100.000/an, în creștere în ultimii ani. În 2019, datele raportează o incidență de 11,07/100.000/an, în 2021: 13,9/100.000/an.

În ultimii ani a crescut interesul pentru a reexamina istoria naturală a funcției celulelor β -pancreatice. Subiectul păstrării funcției reziduale a celulelor β -pancreatice o perioadă cât mai îndelungată, a cercetării factorilor ce pot influența apariția remisiunii parțiale și prelungirea acesteia mi s-a părut provocator, motiv pentru care am ales ca temă de studiu cercetarea parametrilor clinici, biologici care își pun sau nu „amprenta”, în păstrarea secreției endogene de insulină. Funcția reziduală a celulelor β -pancreatice poate fi evaluată prin măsurarea nivelului peptidului C (PC), considerat în prezent cel mai important marker pentru aprecierea secreției endogene de insulină la pacienții cu DZ tip 1 insulinotratați.

Cercetarea de față este structurată în 3 părți:

1. Un prim studiu (I) a fost efectuat pe un lot de 215 pacienți, la care am urmărit timp de 3 ani, rata de declin a PC seric și corelațiile dintre acesta și diverși parametri de la momentul diagnosticului, cu scopul de a identifica acei parametri care își pun amprenta pe păstrarea sau, dimpotrivă pe accelerarea declinului funcției secretorii β -celulare reziduală.

2. Al doilea studiu (II) a inclus 291 de pacienți la care am analizat atât retrospectiv cât și prospectiv diferiți factori clinici și biologici atât de la momentul debutului cât și în evoluție, în relație cu secreția PC timp de cel puțin 5 ani.

3. Al treilea studiu (III) a fost efectuat pe același lot de 291 pacienți și a avut ca scop cercetarea perioadei de remisiune parțială și identificarea factorilor care ar putea influența

apariția și/sau durata acestei faze din evoluția DZ tip 1, în relație cu secreția endogenă de insulină cuantificată prin dozarea PC seric.

Peptidul C (“*connecting*” peptide) este un polipeptid cu formulă moleculară $C_{112}H_{179}N_{35}O_{46}$, alcătuit din 31 de aminoacizi, care face legătura între lanțurile A și B ale insulinei din molecula de proinsulină (precursorul insulinei). Peptidul C a fost descoperit în 1967, odată cu cercetările privind procesul de sinteză a insulinei, de către Steiner [0].

Peptidul C (PC) este cunoscut de câteva decenii. Totuși, de-a lungul timpului a existat o lipsă de interes pentru studiul PC. Abia în ultimii ani, PC este acceptat ca rezultat relevant în studiile care vizează conservarea funcției celulelor β -pancreatice. De asemenea, persistența PC se corelează cu o frecvență mai scăzută a complicațiilor pe termen lung în DZ tip 1.

Studii experimentale, precum și studii clinice recente demonstrează că PC este un produs biologic activ. Cercetările au demonstrat că PC se leagă specific, cu o mare afinitate, de membrana anumitor celule (neuronale, endoteliale, tubulare renale, fibroblaști) printr-un receptor de suprafață cuplat cu o proteină G, care determină activarea căilor de semnalizare intracelulară Ca-dependente. Astfel, PC pare că ar avea un potențial terapeutic în prevenirea apariției unora dintre complicațiile pe termen lung ale diabetului zaharat [132].

Nu există încă o standardizare optimă în ceea ce privește măsurarea PC, și din acest motiv se impune interpretarea cu atenție a valorilor acestuia, în funcție de metoda de determinare utilizată. PC poate fi măsurat à jeun/bazal sau stimulat, prin mai multe metode, în plasmă sau în urină [152].

În prezent, există metode moderne, ultrasensibile, de dozare a PC, care pot detecta valori extrem de scăzute, până la 0,0015-0,0025 nmol/L [159].

Din cauza distrugerii autoimune a celulelor β , în evoluția naturală a DZ tip 1 în primii ani se produce o scădere progresivă a numărului de celule producătoare de insulină. Semnele clinice ale DZ tip 1 apar atunci când masa celulelor β -pancreatice s-a redus cu aproximativ 70-80% [193].

La scurt timp de la debut, în primul an de la diagnostic, mulți pacienți trec printr-o așa numită „lună de miere”, adică o perioadă tranzitorie de remisiune, în care celulele β -pancreatice mai secretă insulină. Cei mai importanți factori care influențează negativ rata de remisiune parțială la pacienții nou diagnosticați cu DZ tip 1 sunt antecedentele de infecție acută, prezenta cetoacidozei și vârsta mică la debut.

Pe baza noii stadializări a DZ tip 1, au fost dezvoltate diferite imunoterapii care să modifice evoluția DZ tip 1. Astfel de intervenții țintesc oprirea procesului autoimun și, astfel prevenirea sau întârzierea apariției bolii simptomatice. Suprimarea procesului autoimun ar proteja masa reziduală de celule β -pancreatice [248]. Teplizumab și ATG în doză mică ar putea fi utilizate cu succes pentru a stopa atacul autoimun asupra celulelor β -pancreatice. Cu toate acestea însă, după întreruperea tratamentului, remisiunea dispare, făcând ca intervenția imunomodulatoare să fie necesară pe termen nelimitat [256].

Partea a II - a. Contribuții personale

Dozarea peptidului C (PC) este metoda prin care se poate cuantifica funcția reziduală a celulelor β -pancreatice. DCCT (Diabetes Control and Complication Trial = Studiul privind controlul și complicațiile diabetului) a raportat că o valoare a PC stimulat $> 0,2$ nmol/L ($> 0,6$ ng/ mL) se asociază cu o frecvență mai scăzută a retinopatiei, nefropatiei și a hipoglicemiei [185,189].

Studiul de față își propune cercetarea corelațiilor ce pot exista între valoarea PC seric și diverși parametri clinici, de laborator precum și de evoluția clinică și identificarea unor factori care să poată fi considerați predictivi pentru păstrarea funcției reziduale β -pancreatice la copiii și adolescenții cu DZ tip 1 aflați în evidența Compartimentului de Diabet din Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „M.S.Curie”, București.

7. Studiul I - Analiza factorilor care influențează evoluția PC in primii 3 ani de la debutul DZ tip 1

7.1. Ipoteza de lucru si obiective specifice

Studiul de față își propune să investigheze corelațiile dintre nivelurile PC seric și diferiți factori clinici și de laborator la copiii și adolescenții cu DZ tip 1 în primii 3 ani după diagnostic.

7.2. Metodologia cercetării

Au fost incluși in studiu un număr de 215 pacienți care au îndeplinit criteriile de includere (102 fete și 113 băieți), cu vârste cuprinse între 0-15 ani.

La momentul diagnosticului am evaluat: vârsta, modalitatea de debut din punct de vedere al severității simptomelor (fără CAD, cu CAD ușoară, CAD medie sau CAD severă), asocierea sau nu a unei boli infecțioase acute, valoarea PC seric a jeun, Hb A1c. Pacienții cu CAD au fost împărțiți în 3 grupe în funcție de gradul acidozei: CAD ușoară (pH = 7,29-

7,20), CAD moderată ($\text{pH} = 7,19-7,11$), CAD severă ($\text{pH} \leq 7,10$). Am urmărit evoluția ratei de declin a PC în primii 3 ani de la diagnostic prin determinarea PC a jeun, anual, timp de 3 ani.

Pacienții au fost astfel împărțiți în două grupuri în funcție de valoarea PC după 3 ani de evoluție a diabetului: grupul 1 cu PC scăzut $< 0,6 \text{ ng/mL}$ și grupul 2 cu rezervă de insulină păstrată, conform DCCT, în care PC a fost $\geq 0,6 \text{ ng/ml}$.

7.3. Rezultate si discutii

În cohorta de 215 copii diagnosticați cu DZ tip 1 la o vârstă fragedă (vârsta medie $7,33 \pm 3,73$ ani), am analizat factorii care pot influența rata declinului PC în primii 3 ani după debutul clinic al diabetului.

Tabel 7.1. Caracteristicile demografice si clinice ale subiecților incluși în studiu

Variabila	Nr. (%)	Grup 1	Grup 2
		(PC<0.6ng/mL) nr.(%)	(PC≥0.6ng/mL) Nr.(%)
Număr pacienți	215(100)	140(65%)	75(35%)
Vârsta la diagnostic (ani)	7.33±3.73	6.03±3.54	9.76±2.75
Fete	102(100)	65(63.7)	37(36.3)
Baieti	113(100)	75(66.4)	38(33.6)
AHC (DZtip1/DZtip2)	97(100)	62(64)	35(36)
Boală infecțioasă acută	47(100)	31(65)	16(35)
HbA1c la diagnostic (%)	11.47±2.21	11.24±2.14	11.91±2.27

Tabel 7.2. Valorile PC mediu la debut și în evoluție în cele 2 grupuri

Variabila	Nr. (%)	Grup 1	Grup 2
		(PC<0.6ng/mL) nr.(%)	(PC≥0.6ng/mL) Nr.(%)
Media PC la debut (ng/mL)	0.79±0.52	0.55±0.36	1.11±0.59
Pacienți cu PC < 0,6 ng/mL la debut	39 (100)	37 (37)	2 (3.5)
Pacienți cu PC ≥ 0,6 ng/mL la debut	119 (100)	64 (63)	55 (96,5)
Media PC la 1 an (ng/mL)	0.71±0.54	0.45±0.31	1.21±0.55
Media PC la 2 ani (ng/mL)	0.55±0.45	0.3±0.26	1±0.39
Media PC la 3 ani (ng/mL)	0.46±0.43	0.21±0.22	0.94±0.31

Un factor important pentru pierderea PC în primii 3 ani este vârsta la momentul diagnosticului. Pacienții cu niveluri păstrate de PC (grupul 2) au avut vârste mai mari la debut ($9,76 \pm 2,75$ ani față de $6,03 \pm 3,54$ ani, în grupul 1) și s-au prezentat mai frecvent fără CAD (60% față de 32%) în comparație cu grupul cu PC scăzut (Grupul 1).

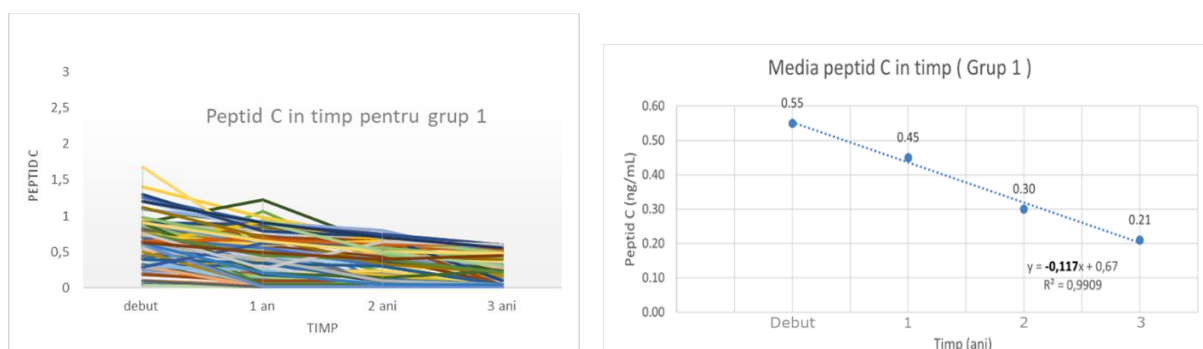


Fig. 7.4. Rata scăderii PC în primii 3 ani de evoluție la grupul 1

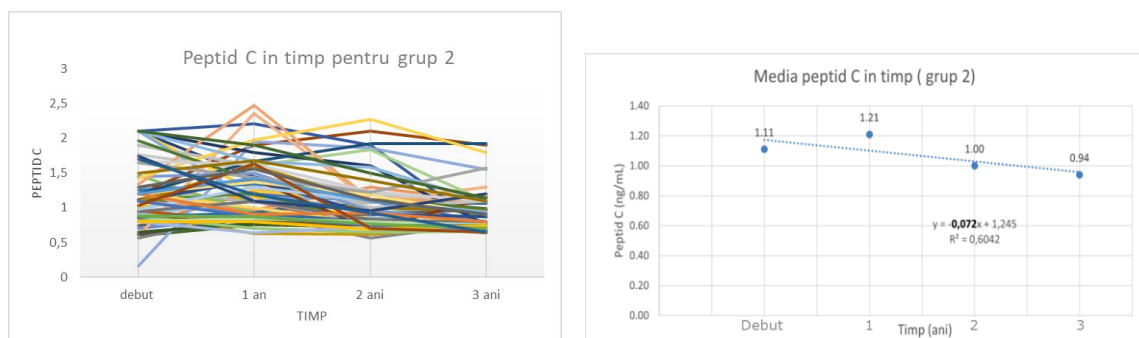


Fig. 7.5. Rata scăderii PC în primii 3 ani de evoluție la grupul 2

S-a calculat rata de scădere a PC care, pentru pacienții din grupul 1 a fost : 0.117 ng/mL per an (Fig. 7.4.), iar pentru cei din grupul 2, al celor cu rezervă de insulină pastrată, PC s-a menținut la valori ≥ 0.6 ng/mL pe tot parcursul celor 3 ani. (Fig. 7.5.) iar rata de scădere a fost mai mică: 0.072 ng/mL per an.

8. Studiul II - Cercetarea evoluției PC în relație cu diverși parametri clinici și biologici după 5 ani de evoluție a DZ tip 1

8.1. Ipoteza de lucru si obiective specifice

Identificarea unor eventuali factori clinici, biologici și de evoluție care ar putea să se asocieze cu păstrarea unei rezerve a secreției endogene β -celulare după 5 ani de la momentul diagnosticului DZ tip 1 la copii și adolescenți.

8.2. Metodologia cercetării

Studiul a inclus un numar de 291 de copii cu DZ tip1, la care s-a evaluat valoarea PC in anul 2019, cu scopul de a observa corelația acestuia cu durata diabetului.

Pentru identificarea altor corelații între PC și alți parametri clinici și biologici, s-au urmărit în evoluție, timp de 5 ani valorile PC seric.

Am sistematizat valorile PC astfel: PC $\geq 0,6$ ng/mL (grup A), PC $> 0,01$ - 0,6 ng/mL (grup B), PC $\leq 0,01$ ng/mL (grup C), iar pacienții au fost grupați în funcție de valoarea PC in 2019 in trei grupuri: A, B și C.

8.3. Rezultate si discuții

Pierderea secreției endogene de insulină este caracteristica principală în DZ tip 1, deficit care se instalează în timp, începând încă înainte de momentul diagnosticului, dar și în perioada următoare [276].

8.3.1. Durata DZ tip 1 și evoluția PC

Cu cât durata DZ tip 1 este mai lungă, cu atât valoarea PC este mai scăzută, astfel că după 9 ani de evoluție PC devine nedetectabil.

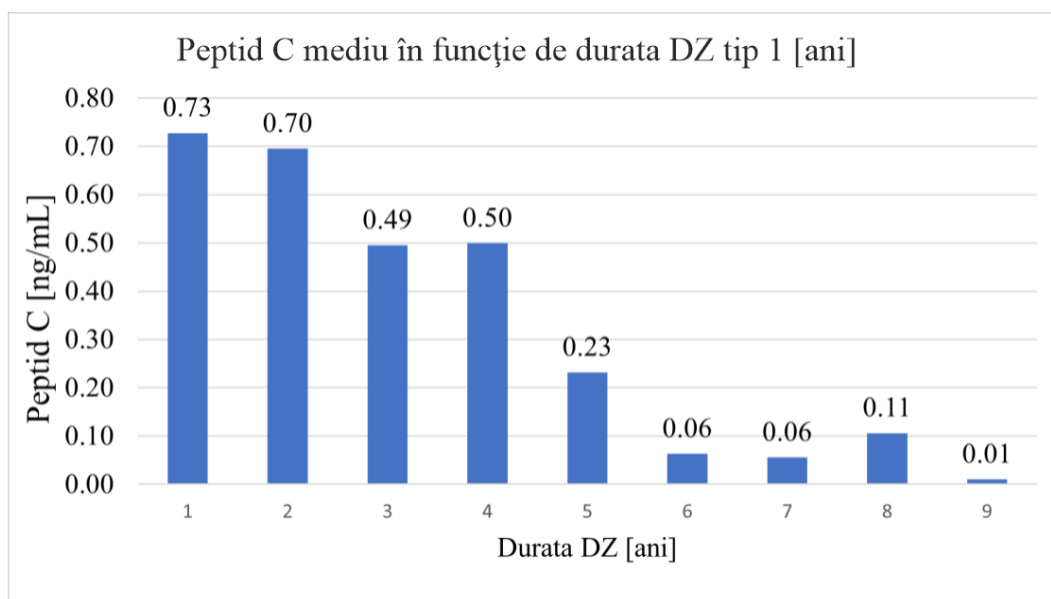


Fig. 8.2. Valorile PC mediu (ng/mL) în funcție de durata DZ tip 1 (ani)

Evoluția mediei PC este marcată de o scădere constantă pe parcursul primilor 5 ani de evoluție. În medie, valoarea PC la 3 ani scade cu 55% față de debut, iar după 5 ani de evoluție este cu 74% mai scăzută comparativ cu valoarea de la diagnostic.

Evoluția PC mediu la 1 an	Evoluția PC mediu la 2 ani	Evoluția PC mediu la 3 ani	Evoluția PC mediu la 4 ani	Evoluția PC mediu la 5 ani
-23%	-41%	-55%	-67%	-74%

Durata DZ este semnificativă în determinarea valorii PC. Atunci când durata DZ crește, valoarea PC scade. Odată cu creșterea duratei diabetului cu un an, valoarea PC scade cu aproximativ 0.06 ng/ml.

8.3.2. Vârsta la debut și evoluția PC

Am evaluat nivelurile PC a jeun, vârsta de la debut, precum și valorile PC în evoluție, anual, timp de 5 ani, pentru a căuta eventualele corelații clinico-evolutive în ceea ce privește păstrarea funcției reziduale de insulină, apreciată prin nivelul seric al PC și vârsta pacienților la debut. Am împărțit subiecții incluși în studiu în trei loturi în funcție de vârsta la stabilirea diagnosticului, și anume: lotul 0: 0-4,9 ani, lotul 1: 5-9,9 ani și lotul 2: 10-13 ani.

La fiecare grup de vârstă am investigat PC la momentul diagnosticului și evoluția lui timp de 5 ani (Fig. 8.18.)

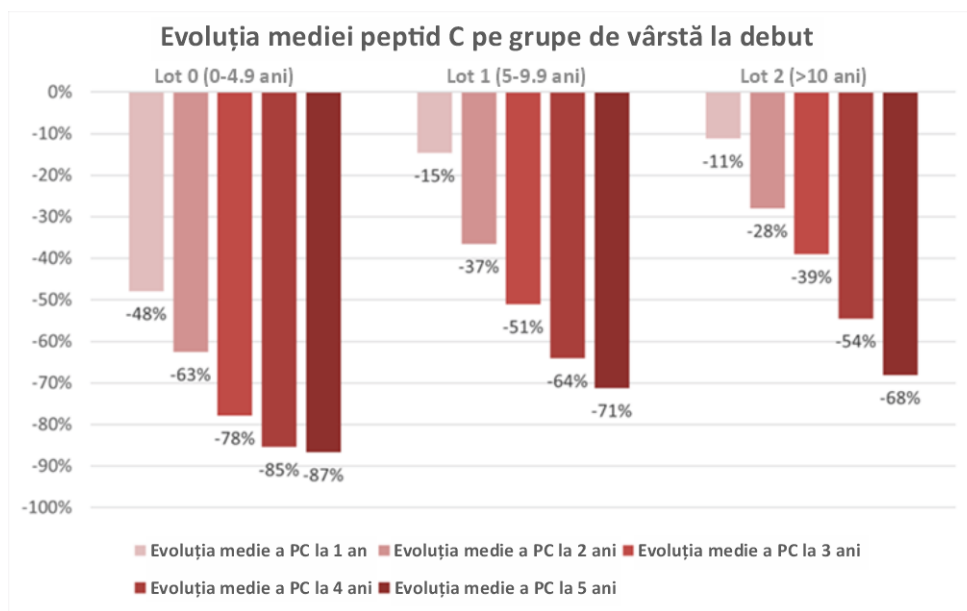


Fig. 8. 18. Evoluția mediei PC pe grupe de vârstă timp de 5 ani

Vârsta la debut este semnificativă în determinarea valorii PC (p-value = 0,01, $p < 0,05$). Modelul indică faptul că odată cu creșterea vârstei la stabilirea diagnosticului cu un an, valoarea PC la un an crește cu aproximativ 0,04 ng/ml (cu o probabilitate de 18%). Când vârsta de la momentul stabilirii diagnosticului este mai mare, valorile PC se mențin la valori crescute.

8.3.3. HbA1c și evoluția PC

Rata de scădere a PC la pacienții cu HbA1c $\geq 10\%$ la debutul bolii este mai accelerată (0,126 ng/mL/an) comparativ cu rata de scădere a PC la pacienții la care HbA1c la momentul diagnosticului a fost $< 10\%$ (0,107 ng/mL/an). Coeficientul de corelație în ambele situații a fost semnificativ (98%).

Am urmărit corelația între valoarea HbA1c și PC seric în timp, la pacienții cu HbA1c $< 7\%$, comparativ cu cei la care HbA1c a fost $\geq 7\%$. Am grupat pe cei bine controlați metabolic, cu HbA1c $< 7\%$ și respectiv cei cu HbA1c $\geq 7\%$.

Dupa 5 ani de evoluție a DZ tip 1 se observa că aproape 95% (nr = 74) dintre pacienții care prezintă un control glicemic nefavorabil, detin concentrații scăzute ale PC seric $< 0,6$ ng/mL. În grupul celor cu control metabolic optim (HbA1c $< 7\%$), se observa o pondere mai mare a celor cu rezerva pastrata de PC (65,9%).

8.3.4. CAD la debut și evoluția PC

Grupul de pacienți la care debutul clinic a fost cu simptomatologie mai severă (CAD) și grupul de pacienți care nu au prezentat CAD inaugurală au fost comparate analizând următoarele variabile: sex, mediu de proveniență, vârsta la debut, prezența sau nu a unei boli infecțioase acute la momentul stabilirii diagnosticului precum și valorile medii ale peptidului C în evoluție la 1an, la 3 ani și la 5 ani (Tabel 8.2)

Tabel 8.2. Comparatie între pacienții cu CAD prezentă la debut și cei cu CAD absentă din punct de vedere al mai multor variabile

Distribuția pacienților în funcție de CAD la debut		CAD	non-CAD	p-value*
Sex	Feminin	58%	42%	0.99674
	Masculin	58%	42%	
Mediu de proveniență	Rural	64%	36%	0.34634
	Urban	57%	43%	
Vârsta la debut	Grupa 0-5 ani	67%	33%	0.00052
	Grupa 5-10 ani	62%	38%	
	Grupa >10ani	39%	61%	
Infecție acută la debut	Da	69%	31%	0.02422
	Nu	54%	46%	

*p-value este asociată valorii testului statistic Chi-square

Analizând tabelul de mai sus, se poate afirma că există asocieri între CAD la debut și vârsta la debut, infecția la debut (valoarea $p < 0,05$).

Tabel 8.3. Evoluția valorilor PC in timp in funcție de prezența sau absența CAD la debut

Distribuția pacienților în funcție de CAD la debut		CAD	Non-CAD	p-value*
Valoarea Peptid C la 1 an	< 0.6 ng/ mL	67%	33%	0.00438
	≥ 0.6 ng/ mL	48%	52%	
Valoarea Peptid C la 3 ani	< 0.6 ng/ mL	68%	32%	0.00076
	≥ 0.6 ng/ mL	45%	55%	
Valoarea Peptid C la 5 ani	< 0.6 ng/ mL	64%	36%	0.01188
	≥ 0.6 ng/ mL	38%	62%	

Valorile PC la 1 an de evoluție sunt mai mici la pacienții cu CAD la debut (67% dintre pacienții cu PC < 0,6 ng/mL au prezentat CAD la debut). PC mediu după 3 ani de evoluție este < 0,6 ng/mL la 68% dintre cei cu CAD la debut. Iar la 5 ani, 64% dintre cei cu PC scăzut provin din rândul celor cu debut cu CAD.

9. Studiul III - Remisiunea parțială și corelațiile cu PC

9.1. Ipoteza de lucru și obiective specifice

În studiul de față mi-am propus să analizez corelațiile între factorii care ar putea fi considerați predictivi pentru apariția perioadei de remisiune și nivelul PC seric, ca marker al rezervei endogene de insulină.

9.2. Metodologia cercetării

În studiul de față am folosit definiția perioadei de remisiune propusă de ghidul ISPAD 2022 [2,332] și anume: necesar scăzut de insulină < 0,5 U/kg/zi, HbA1c < 7%, o durată a diabetului mai mare de 4 săptămâni, absența simptomatologiei clinice.

Cei 291 de copii și adolescenți incluși în studiul de față au fost împărțiți în două grupuri distincte, în funcție de prezența sau nu a perioadei de remisiune și anume: 1) grupul R, al celor care au avut remisiune și 2) grupul non-R, al pacienților care nu au experimentat faza de remisiune. Un număr de 189 de pacienți au prezentat remisiune parțială (64,9%), și au fost incluși în grupul R, în timp ce restul de 102 (35,1%) nu au avut remisiune parțială fiind incluși în grupul non-R.

9.3. Rezultate și discuții

Se observă o medie a PC semnificativ mai mare în grupul celor care au prezentat remisiune parțială comparativ cu cei care nu au avut remisiune, în evoluția DZ tip 1 la pacienții din lotul studiat. Astfel la 1 an de la diagnostic media PC la cei care au prezentat remisiune este 0,86 ng/mL. Pe măsură ce durata DZ tip 1 crește se remarcă tendința evidentă de scădere a mediei PC, progresiv în fiecare an, astfel că după 5 ani de evoluție, aceasta este 0,35 ng/mL la copiii cu remisiune față de o medie a PC de numai 0,07 ng/mL la cei care nu au experimentat remisiunea parțială (Fig. 9.3.)

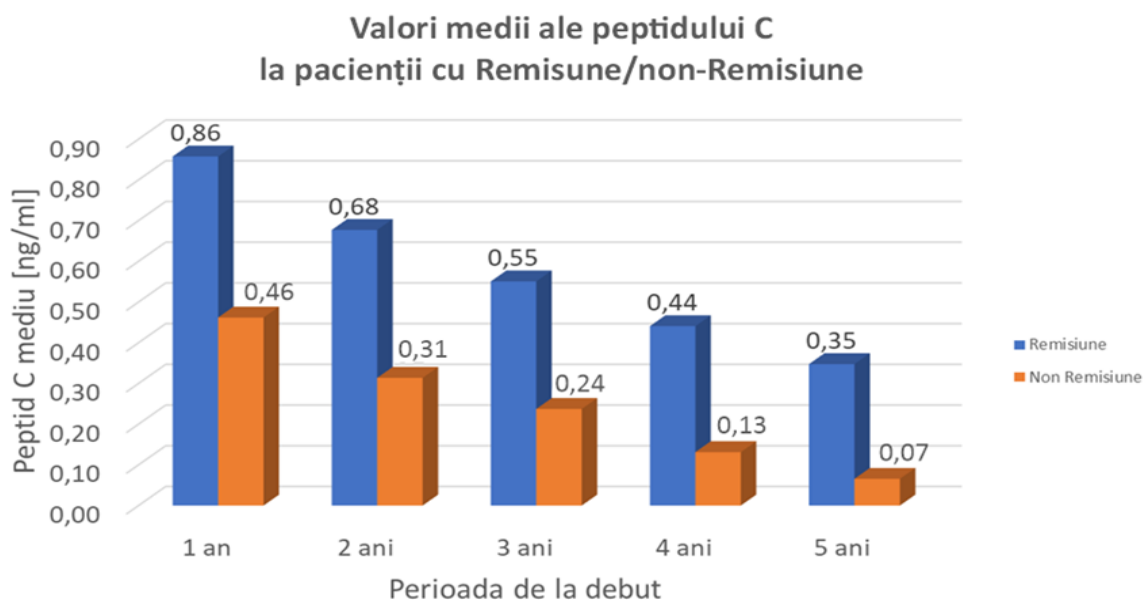


Fig. 9.3. Evoluția în timp a valorilor PC la pacienții cu remisiune și la cei fara remisiune

În Fig. 9.4. se observă cum evoluția valorilor medii anuale ale PC sunt strâns corelate cu prezența remisiunii sau absența acesteia. Mai precis, evoluția valorilor medii ale PC este mult mai lină în cazul celor care au prezentat remisiune și, în schimb, mult mai agresivă în cazul non-remisiunii.

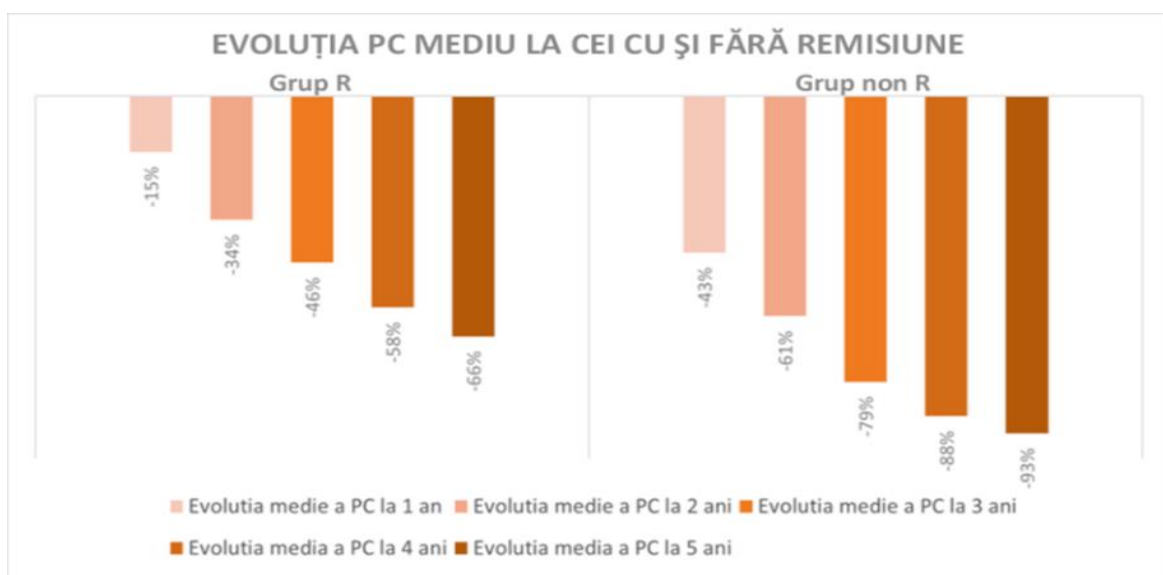


Fig. 9.4. Evoluția în timp a valorilor peptidului C în cele două grupuri : cu remisiune și fără remisiune

În grupul celor care au prezentat perioadă de remisiune se remarcă la 1 an de evoluție o scădere a mediei PC cu 15% din valoarea de la debut, în timp ce la 1 an de evoluție în grupul pacienților fără remisiune, scăderea mediei PC este de 43% din valoarea inițială. După 5 ani de evoluție, media PC scade cu 66% din valoarea de la debut, în grupul remitenteților comparativ cu o scădere de 93%, pe care o prezintă grupul nonremitentilor.

Am evaluat și eventualele corelații între modalitatea de debut și apariția perioadei de remisiune dar și influența gradului de severitate a simptomelor de debut asupra duratei remisiunii. Am împărțit lotul de 291 pacienți în 4 grupe în funcție de modalitatea de debut: fără CAD, cu CAD ușoară, cu CAD moderată și respectiv, cu CAD severă.

În Fig. 9.14. se remarcă distribuția cazurilor cu remisiune, respectiv, fără remisiune în funcție de categoria de CAD. Se poate afirma că cei doi parametri: apariția remisiunii și CAD, se află în stransă corelație ($p\text{-value} = 0,0047$, $p < 0,05$).

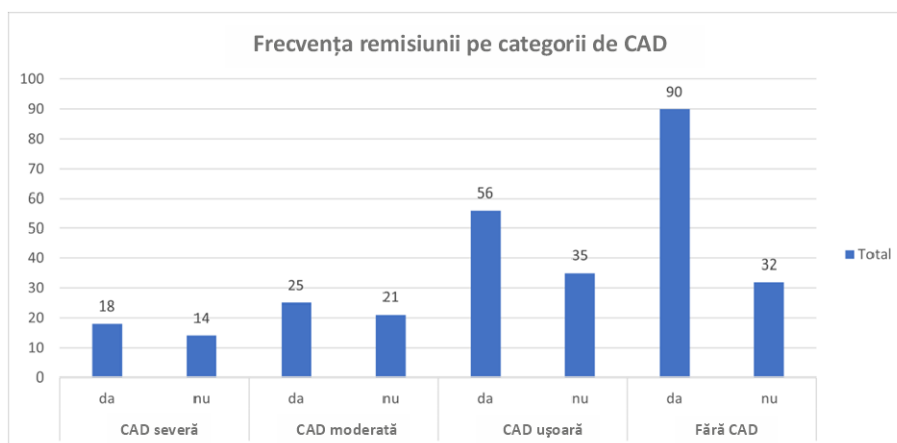


Fig. 9.14. Frecvența remisiunii în funcție de prezența CAD la debut și de severitatea CAD

În graficul de mai jos se poate observa distribuția cazurilor cu remisiune pe grupe de vârstă: lot 0 = 0-4,9 ani, lot 1 = 5-9,9 ani și lot 3 = 10-18 ani.

Astfel, se poate afirma că remisiunea este mai frecventă în rândul celor mai în vârstă pacienți (lot 2 = 10-18 ani).

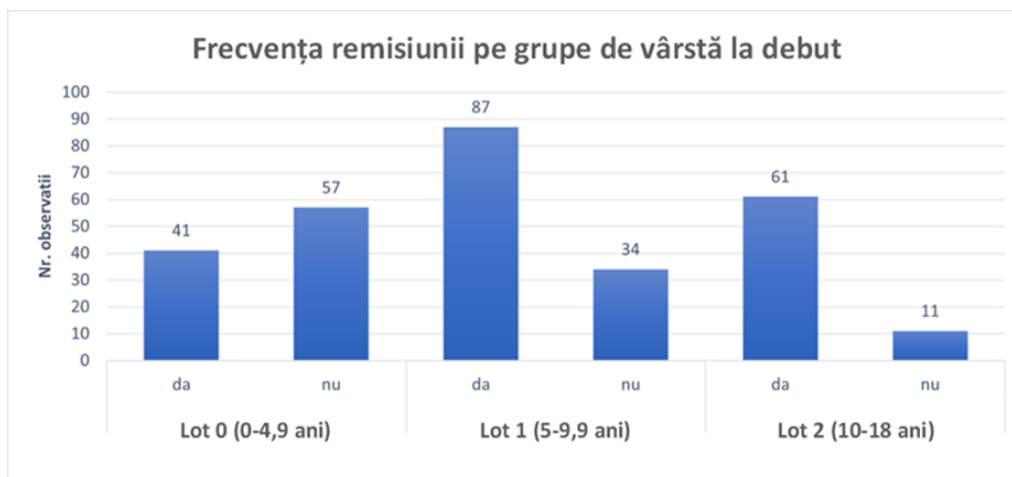


Fig. 9.15. Frecvența remisiunii în funcție de vârsta la debut

10. Concluzii și contribuții personale

Contribuții personale

Studiul prezentat susține ceea ce se cunoaște deja despre declinul funcției secretorii a celulelor β -pancreatice în evoluția DZ tip 1 și aduce date despre evoluția naturală a peptidului C la un lot semnificativ de copii și adolescenți din populația pediatrică din România. Cercetarea a dispus nu numai de un lot reprezentativ de pacienți dar și de toata plaja de vârste pediatrice: 0-18 ani.

Studiile care au vizat cercetarea prezervării peptidului C la pacienții cu DZ tip 1 au fost efectuate în marea lor majoritate, pe o perioadă scurtă de timp, de 1-2 ani, vizând studiul perioadei de remisiune parțială. Studiul prezentat aici s-a desfășurat pe o perioadă de 5 ani, aducând date importante și din acest punct de vedere.

Un alt aspect semnificativ în acest studiu este numărul reprezentativ de pacienți cu vârsta mică 0-5 ani, având în vedere că în literatura de specialitate există puține studii care să includă pacienți din această grupă de vârstă.

Concluzii

În cercetarea actuală se constată :

- Mediul de proveniență urban a înregistrat cea mai mare prevalență (84,5%), vârsta medie de debut al DZ tip 1 a fost de aproximativ 7 ani. Vârsta la care a avut loc debutul DZ tip 1 pentru cel mare număr de pacienți a fost de 0-1 an (nr = 35), reprezentând 12% din totalul subiecților incluși în studiu.

- În lotul de 291 pacienți incluși în studiu, ponderea majoritară a fost reprezentată de sexul masculin :155 (53%) de pacienți, iar 136 (47%) dintre subiecți au fost de sex feminin.

- În ceea ce privește istoricul familial de diabet zaharat tip 1 și de diabet zaharat tip 2, acesta a fost prezent în cazul a 46 de pacienți (16%) pentru DZ tip 1 și respectiv 85 de pacienți (29%) pentru DZ tip 2. De subliniat este faptul că la majoritatea dintre pacienții incluși în studiu, 160 (55%) nu am întâlnit istoric familial de diabet.

- Vârsta mai mare ($9,76 \pm 3,54$ ani) la diagnostic crește probabilitatea menținerii secreției reziduale de insulină reflectată în nivelele $PC \geq 0,6$ ng/mL după 3 ani de evoluție, putând fi considerată un factor de protecție pentru un declin mai lent al secreției PC. Vârsta mai mică ($6,03 \pm 3,54$ ani) la debut s-a corelat cu nivele ale $PC < 0,6$ ng/mL după 3 ani de evoluție, date ce concordă și cu alte studii publicate [184,241,285,290,305].

- Varsta la debut este semnificativă în determinarea valorii PC (p-value a testului statistic este $< 0,01$). Odată cu creșterea vârstei la momentul stabilirii diagnosticului cu 1 an, valoarea PC la un an crește cu aproximativ 0,04 ng/mL.

- Dintre pacienții cu CAD, majoritatea lor, respectiv 31% (nr=91) au prezentat forme ușoare, 11% dintre ei (nr=32), au avut debut cu CAD moderată iar la 16% (nr=46) debutul a fost cu CAD severă.

- Pacienții cu vârste mai mici sunt mai predispuși la CAD la debut: 67% dintre pacienții cu vârsta: 0-5 ani și respectiv, 62% dintre cei cu vârsta: 5-10 ani au prezentat debut cu CAD, în timp ce, doar 39% dintre pacienții cu vârsta: >10 ani au avut debut cu CAD ($p= 0.00052$, $p<0,05$).

- Pacienții care prezintă simptome severe (CAD) sau infecție acută la debut prezintă un risc crescut de a avea o scădere mai rapidă a PC. Infecția la debut este mai frecventă

(69%) în rândul pacienților cu CAD la momentul stabilirii diagnosticului ($p = 0,02422$, $p < 0,05$)

- Încă de la debut se remarcă o corelație între nivelul seric al PC și gradul severității CAD, în sensul în care, cu cât CAD este mai severă, cu atât concentrația serică a PC la debut este mai scăzută

- Prezența CAD la debutul DZ tip 1 impactează negativ păstrarea funcției β -celulare pancreatice în timp. În consecință, prevenirea eficientă a CAD la diagnosticarea bolii ar putea oferi beneficii de durată.

- Valorile peptidului C la 1 an de evoluție sunt mai mici la pacienții cu CAD la debut (67% dintre pacienții cu PC $< 0,6$ ng/mL au prezentat CAD la debut). PC mediu după 3 ani de evoluție este $< 0,6$ ng/mL la 68% dintre cei cu CAD la debut. Iar la 5 ani, 64% dintre cei cu PC scăzut provin din rândul celor cu debut cu CAD.

- Pacienții cu valori PC $\geq 0,6$ ng/mL la momentul diagnosticului păstrează valori $> 0,6$ ng/mL și după 3 ani de evoluție a diabetului. Declinul PC la această categorie de pacienți a fost mai lent (rata de scădere = $0,072$ ng/mL, $R^2 = 0,6042$) în comparație cu pacienții care la debut au prezentat un nivel scăzut al PC $< 0,6$ ng/mL (rata de scădere = $0,117$ ng/mL, $R^2 = 0,9909$).

- Durata DZ este semnificativă în determinarea valorii PC ($p < 0,05$). Se remarcă o relație invers proporțională între durata DZ tip 1 și valoarea PC. Odată cu creșterea duratei diabetului cu un an, valoarea PC scade cu aproximativ $0,06$ ng/mL (cu o probabilitate de 27%).

- În medie, valoarea peptidului C după 3 ani de evoluție este cu 55% mai mică decât valoarea la debut, iar după 5 ani de evoluție este cu 74% mai mică decât valoarea inițială.

- După 5 ani de evoluție: 23% dintre pacienții incluși în studiu au prezentat valori ale PC $\geq 0,6$ ng/mL, 19% dintre ei au avut PC = $0,01-0,6$ ng/mL iar 58% dintre ei au prezentat nivele ale PC $< 0,01$ ng/mL.

- Cu cât durata DZ tip 1 este mai lungă, cu atât valoarea PC este mai scăzută, astfel că după 9 ani de evoluție PC devine nedetectabil ($< 0,01$ ng/mL).

• Se observă faptul că scăderea valorilor PC este în medie mai lentă la pacienții cu vârsta > 10 ani (a scăzut cu 68% după 5 ani de evoluție), accelerându-se constant cu cât vârsta e mai mică. La grupa de vârstă 0-4,9 ani, PC mediu a scăzut cu 87% după 5 ani de evoluție iar la cei cu vârsta între 5-9,9 ani, scăderea PC a fost la 5 ani cu 71%.

• Rata de scădere a PC la pacienții cu HbA1c $\geq 10\%$ la debutul bolii este mai accelerată (0,126 ng/mL/an, $R^2=0,9852$) comparativ cu rata de scădere a PC la pacienții la care HbA1c la momentul diagnosticului a fost < 10% (0,107 ng/mL/an, $R^2=0,9874$). Coeficientul de corelație în ambele situații a fost semnificativ statistic (98%).

• Asocierea unei alte patologii autoimune la momentul diagnosticului DZ tip 1 nu influențează declinul funcției secretorii reziduale β -celulare.

• După 3 ani de evoluție, în grupul pacienților cu control metabolic precar (HbA1c $\geq 7\%$) există o proporție semnificativ mai mare (84,6%) a pacienților cu PC < 0,6 ng/ml comparativ cu cei care pastrează rezervă de insulină endogenă (15,4%), iar după 5 ani proporția celor cu dezechilibru glicemic și cu nivel scăzut de PC < 0,6 ng/mL crește la 95%.

• Controlul glicemic, apreciat prin valoarea HbA1c, se ameliorează, pe măsura ce concentrația serică a PC crește (crește proporția pacienților cu HbA1c < 7%). Aceasta tendința se pastrează indiferent de durata de evoluție a DZ tip1.

• Prevalența remisiunii a fost de 64,9% la copiii și adolescenții incluși în studiul prezentat, în concordanță cu datele ce reies din alte studii publicate care relevă o prevalență : între 11% și 90% [333-335].

• Există variații semnificative în ceea ce privește apariția remisiunii parțiale în funcție de grupa de vârstă. Pacienții cu vârste între 5 și 9,9 ani prezintă cea mai înaltă rată de remisiune parțială (55,6%), în timp ce pacienții cu vârste între 0 și 4,9 ani și cei cu vârste mai mari de 10 ani prezintă rate mai scăzute de remisiune parțială: 21,7%, respectiv 22,8%.

• Pacienții care au prezentat remisiune parțială au avut valori ale PC mediu la debut mai mari (PC=0,94 ng/mL) comparativ cu cei care nu au experimentat remisiunea (PC mediu= 0,61ng/mL).

• Pacienții care prezintă remisiune au nivele optime ale PC $\geq 0,6$ ng/mL și un control glicemic îmbunătățit în primii 3-5 ani.

• După 5 ani de evoluție, media PC scade cu 66% din valoarea de la debut, în grupul celor cu remisiune comparativ cu o scădere de 93%, pe care o prezintă grupul celor fără remisiune.

• Prezența CAD la diagnostic a fost asociată cu o frecvență mai scăzută a remisiunii ($p = 0.047$, $p < 0.05$). 74% dintre pacienții fără CAD la debut au prezentat remisiune parțială, în timp ce numai 58% dintre cei cu CAD au experimentat perioadă de remisiune.

Perspective de cercetare

În urma acestui studiu reiese necesitatea unor cercetări viitoare care :

• Să ia în calcul perioade mai lungi de 5 ani de urmărire a prezenței funcției reziduale β -pancreatice, astfel încât datele furnizate să fie mai semnificative.

• Să ofere posibilitatea continuării studiului pacienților din clinici de pediatrie și în clinicile de adulți, unde aceștia ajung după împlinirea vârstei de 18 ani.

• Să studieze influența pubertății asupra evoluției secreției endogene de insulină la pacienții diagnosticați cu DZ tip 1.

• Să centralizeze date de la mai multe centre regionale de diabet pediatric din țară.

• Ar fi interesant să se analizeze gradul de pierdere a secreției β -celulare în funcție și de recurența CAD în cursul evoluției, ceea ce ar putea deteriora și mai mult secreția reziduală de insulină.

• Este recomandabil să începem să lucrăm cu IDAA1c (HbA1c ajustată în funcție de doza de insulină) pentru definirea fazei de remisiune a DZ tip 1. IDAA1c se corelează foarte bine cu nivelul PC, fiind recomandat și de ISPAD.

• Să existe posibilitatea efectuării testelor genetice (studiul HLA pentru stabilirea subtipurilor genetice de DZ tip 1) care ar aduce plus valoare cercetării în domeniul DZ tip

Bibliografie selectivă

1. International Diabetes Federation IDF Diabetes Atlas 2021, International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 10th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2021.
2. Libman I, Haynes A, Lyons S, Pradeep P, Rwagasor E, Tung JY, Jefferies CA, Oram RA, Dabelea D, Craig ME. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2022: Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2022 Dec;23(8):1160-1174. doi: 10.1111/peci.13454. PMID: 36537527.
122. Steiner DF, Cunningham D, Spigelman L, Aten B. Insulin biosynthesis: evidence for a precursor. *Science*. 1967 Aug 11;157(3789):697-700. doi: 10.1126/science.157.3789.697. PMID: 4291105.
132. Wahren J, Kallas A, Sima AA. The clinical potential of C-peptide replacement in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2012 Apr;61(4):761-72. doi: 10.2337/db11-1423. PMID: 22442295; PMCID: PMC3314360.
152. Jones AG, Hattersley AT. The clinical utility of C-peptide measurement in the care of patients with diabetes. *Diabet Med*. 2013;30:803–817. doi: 10.1111/dme.12159.
159. Kuhlreiber WM, Washer SL, Hsu E, Zhao M, Reinhold P 3rd, Burger D, Zheng H, Faustman DL. Low levels of C-peptide have clinical significance for established Type 1 diabetes. *Diabet Med*. 2015 Oct;32(10):1346-53. doi: 10.1111/dme.12850. Epub 2015 Aug 16. PMID: 26172028; PMCID: PMC4578991.
193. Cnop M, Welsh N, Jonas JC, Jörns A, Lenzen S, Eizirik DL. Mechanisms of pancreatic β -cell death in type 1 and type 2 diabetes: many differences, few similarities. *Diabetes*. 2005 Dec;54 Suppl 2:S97-107. doi: 10.2337/diabetes.54.suppl_2.s97. PMID: 16306347.
248. Skyler JS, Bakris GL, Bonifacio E, Darsow T, Eckel RH, Groop L, Groop PH, Handelsman Y, Insel RA, Mathieu C, McElvaine AT, Palmer JP, Pugliese A, Schatz DA, Sosenko JM, Wilding JP, Ratner RE. Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis. *Diabetes*. 2017 Feb;66(2):241-

255. doi: 10.2337/db16-0806. Epub 2016 Dec 15. PMID: 27980006; PMCID: PMC5384660.
256. Skyler JS. New insights into halting type 1 diabetes. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2021 Aug;9(8):475-476. doi: 10.1016/S2213-8587(21)00169-8. Epub 2021 Jun 29. PMID: 34214480.
185. Lachin JM, McGee P, Palmer JP. Impact of c-peptide preservation on metabolic and clinical outcomes in the diabetes control and complications trial. *Diabetes* 2014;63(2):739–748. doi: 10.2337/db13-0881. [PubMed: 24089509].
- 189 Steffes MW, Sibley S, Jackson M, Thomas W. B-cell function and the development of diabetes-related complications in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care.* 2003;26:832–836. [PubMed]
276. Palmer JP. C-peptide in the natural history of type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 2009 May;25(4):325-8. Doi: 10.1002/Dmrr.943. PMID: 19267337; PMCID: PMC2895504
332. Limbert C, Tinti D, Malik F, Kosteria I, Messer L, Jalaludin MY, Benitez-Aguirre P, Biester S, Corathers S, von Sengbusch S, Marcovecchio ML. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2022: The delivery of ambulatory diabetes care to children and adolescents with diabetes. *Pediatr Diabetes.* 2022 Dec;23(8):1243-1269. doi: 10.1111/pedi.13417. PMID: 36537530.
184. Wang L, Lovejoy NF, Faustman DL. Persistence of prolonged C-peptide production in type 1 diabetes as measured with an ultrasensitive C-peptide assay. *Diabetes Care* 2012;35(3):465–470. doi:10.2337/dc11-1236. [PubMed: 22355018].
241. Davis AK, DuBose SN, Haller MJ, Miller KM, DiMeglio LA, Bethin KE, Goland RS, Greenberg EM, Liljenquist DR, Ahmann AJ, Marcovina SM, Peters AL, Beck RW, Greenbaum CJ; T1D Exchange Clinic Network. Prevalence of detectable C-Peptide according to age at diagnosis and duration of type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2015 Mar;38(3):476-81. doi: 10.2337/dc14-1952. Epub 2014 Dec 17. PMID: 25519448
285. Mortensen HB, Swift PG, Holl RW, Hougaard P, Hansen L, Bjoerndalen H, De Beaufort CE, Knip M; Hvidoere Study Group On Childhood Diabetes. Multinational Study În Children And Adolescents With Newly Diagnosed Type 1

- Diabetes: Association Of Age, Ketoacidosis, HLA Status, And Autoantibodies On Residual B-Cell Function And Glycemic Control 12 Months After Diagnosis. *Pediatr Diabetes*. 2010 Jun;11(4):218-26. Doi: 10.1111/J.1399-5448.2009.00566.X. Epub 2008 Aug 25. PMID: 19708904.
290. Hao W, Gitelman S, Dimeglio LA, Boulware D, Greenbaum CJ; Type 1 Diabetes Trialnet Study Group. Fall În C-Peptide During First 4 Years From Diagnosis Of Type 1 Diabetes: Variable Relation To Age, Hba1c, And Insulin Dose. *Diabetes Care*. 2016 Oct;39(10):1664-70. Doi: 10.2337/Dc16-0360. Epub 2016 Jul 15. PMID: 27422577; PMCID: PMC5033079.
305. Yu HW, Lee YJ, Cho WI, Lee YA, Shin CH, Yang SW. Preserved C-Peptide Levels În Overweight Or Obese Compared With Underweight Children Upon Diagnosis Of Type 1 Diabetes Mellitus. *Ann Pediatr Endocrinol Metab*. 2015 Jun;20(2):92-7. Doi: 10.6065/Apem.2015.20.2.92. Epub 2015 Jun 30. PMID: 26191513; PMCID: PMC4504996.
333. Pozzilli P, Manfrini S, Buzzetti R, Lampeter E, Leeuw ID, Iafusco D, Prisco M, Ionescu-Tirgoviste C, Kolousková S, Linn T, Ludvigsson J, Madácsy L, Mrozikiewicz AS, Mrozikiewicz PM, Podar T, Vavrinc J, Vialettes B, Visalli N, Yilmaz T, Browne PD; IMDIAB group. Glucose evaluation trial for remission (GETREM) in type 1 diabetes: a European multicentre study. *Diabetes Res Clin Pract*. 2005 Jun;68(3):258-64. doi: 10.1016/j.diabres.2004.10.001. Epub 2004 Nov 21. PMID: 15936469.
334. Büyükgebiz A, Cemeroglu AP, Böber E, Mohn A, Chiarelli F. Factors influencing remission phase in children with type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2001 Nov-Dec;14(9):1585-96. doi: 10.1515/jpem.2001.14.9.1585. PMID: 11795651.
335. Yazidi M, Mahjoubi S, Oueslati I, Chaker F, Chihaoui M. The remission phase in adolescents and young adults with newly diagnosed type 1 diabetes mellitus: prevalence, predicting factors and glycemic control during follow-up. *Arch Endocrinol Metab*. 2022 Apr 28;66(2):222-228. doi: 10.20945/2359-3997000000456. Epub 2022 Mar 22. PMID: 35315990; PMCID: PMC98328