



REZUMAT PhD. Mădălina ROȘCA

CERCETARI PRIVIND ETIOPATOGENEZA, DIAGNOSTICUL ȘI TERAPIA DIABETULUI ZAHARAT LA PISICĂ

Stadiul actual al cunoașterii etiopatogenezei, diagnosticului și terapiei diabetului zaharat la pisică constituie prima parte a lucrării. Date privind epidemiologia, fiziopatologia, examenele paraclinice utilizate în mod curent pentru diagnosticarea diabetului zaharat și a afecțiunilor asociate, precum și protocolul actual de instituire a terapiei specifice, sunt prezentate pe 31% din volumul lucrării. *Capitolul I*, cu titlul *“Date actuale privind etiopatogeneza diabetului zaharat felin”* prezintă informații generale privind anatomia pancreasului, modul de utilizare a glucozei de către țesuturile insulinodependente și non-insulinodependente, precum și fiziopatologia hiperglicemiei persistente. Caracterul bolii este completat de modul de clasificare, în diabet zaharat de tip I și tip II, descrierea fiziopatologică a acestora și rata de apariție a bolii la nivel mondial. *Capitolul II*, după cum indică și titlul *„Panoul de diagnostic actual utilizat în depistarea diabetului zaharat și a endocrinopatiilor primare cu potențial diabetogen”* prezintă date generale ale examenului clinic și fizic și a investigațiilor paraclinice generale și speciale, pentru confirmarea patologiei cauzatoare sau asociate diabetului zaharat felin. În capitolul III se prezintă pe scurt *„Actualitatea protocolului terapeutic în diabetul zaharat felin”*. Secțiunea descrie principalii analogi de insulină și hipoglicemianta orale utilizate în mod obișnuit în terapia diabetului zaharat felin, în raport cu afecțiunile și complicațiile asociate bolii primare.

Partea a II-a cuprinde cercetările proprii desfășurate în cadrul tezei, acestea fiind prezentate în trei mari capitole, la rândul lor divizate în subcapitole, pe 69% din volumul lucrării. Aceasta prezintă rezultatele cercetărilor privind epidemiologia diabetului zaharat felin, depistarea celor mai importanți factori cauzal și dificultățile întâmpinate de către clinicieni în evaluarea pacienților. De asemenea sunt dezvoltate metode noi de diagnostic cu aplicabilitate înaltă în domeniul medical veterinar clinic și de laborator. În ultima parte a cercetărilor proprii sunt aduse contribuții importante în protocolul terapeutic specific și restabilirea homeostaziei glicemice la pacienții diabetici. Capitolul IV structurează *„Studiul etiopatogenezei diabetului zaharat la pisică”* în trei subcapitole ce includ incidența, implicarea antagoniștilor insulinici în creșterea ratei de apariție a bolii și evaluarea statusului clinic în raport cu gradul de avansare a bolii.



„*Studiul epidemiologiei diabetului zaharat la pisică*”, în capitolul IV.1, a fost desfășurat pe un număr total de 5175 de feline, înregistrate retrospectiv pe o perioadă de nouă ani, din baza de date a unei clinici private și a Clinicii Medicale a Facultății de Medicină Veterinară. Prevalența diabetului zaharat a indicat o creștere liniară ($R^2=0.98$) de la 4 cazuri în 2006, la 12 cazuri în 2014. Incidența cumulativă în cadrul populației studiate a înregistrat o progresie de la 6.9 cazuri la fiecare 1000 pisici consultate (1 la 143 cazuri), la 12.5 cazuri pe fiecare 1000 de pisici (1 la 79 cazuri), nouă ani mai târziu, cu o incidență de 1.25% raportată la numărul total de cazuri.

Numărul mai mare al masculilor în populația totală analizată (2898 masculi - 56%; 2277 femele - 44%) explică proporția mai mare a cazurilor de diabet la acest gen. Cu toate acestea predispoziția masculilor a fost dovedită statistic ($P<0.001$) și corelată cu media greutateii mai mari a acestora față de femele ($M=5.16$ kg, $F= 4.51$ kg), precum și cu media de vârstă mai mică ($M=10.85$ ani, $F=11.16$). Aceste date sunt explicate de o sensibilitate mai redusă în mod natural față de insulină, precum și o capacitate adipogenetică mai crescută comparativ cu femelele, ceea ce face ca masculii să fie mai predispuși la dezvoltarea insulinorezistenței. Rasa birmaneză a prezentat un risc de 2.7 ori mai mare de a dezvolta diabet decât alte rase luate în studiu. Pe parcursul celor nouă ani, 19% ($n=983$) din cazuri au aparținut rasei birmaneze, din care 34 au fost diagnosticate cu diabet, rezultând o prevalență semnificativ mai crescută față de celelalte rase, incidența cumulativă indicând un număr de 34.5 indivizi afectați la fiecare 1000 sau 1 la 29 de pisici din această rasă. Predispoziția mai mare a rasei a fost explicată de o serie de defecte ale metabolismului lipidic, o activitate mai redusă a unei lipaze lipoproteice, reglată în principal de către insulină precum și absența unei apolipoproteine. Toți acești factori duc la creșterea nivelului de lipoproteine și chilomicroni, cu instalarea ulterioară a hipertrigliceridemiei și insulinorezistenței. Vârsta medie a femelelor din rasa Birmaneză a fost cu 3.6 ani mai mare față de cea Europeană (Birmaneză/ $F = 13.3$, Europeană/ $F = 9.7$), iar cea a masculilor a evidențiat o diferență de doar 0.7 ani (Birmaneză/ $M = 11.47$, Europeană/ $M = 10.69$). Tendința de apariție mai tardivă a diabetului zaharat la rasa birmaneză, a fost pusă pe seama unei secreții de amiloid și inflamații pancreatice mult reduse față de alte rase.

Datele anamnetice înregistrate din baza de date au indicat o asocierie majoră a cazurilor de diabet zaharat cu administrarea progestagenilor sintetici și a antiinflamatoarelor steroidiene, fapt ce a motivat următoarele cercetări.



„Implicarea progestagenilor sintetici și antiinflamatoarelor steroidiene în epidemiologia și etiopatogenza diabetului zaharat felin” (Cap. IV.2.) a fost evaluată prin aprofundarea analizei epidemiologice descriptive a diabetului zaharat în raport cu administrarea acestor substanțe.

Din totalul cazurilor din baza de date, un număr de 750 (14.5%) indivizi integri au fost tratați anual în două până la patru episoade cu progestageni sintetici. Din aceștia ($n=750$), un număr de 21 pacienți au fost diagnosticați ulterior cu diabet, indicând o prevalență de 0.4%, raportată la totalul populației analizate. Prin raportarea pacienților diagnosticați cu diabet ($n=21$) numai la cei tratați cu progestageni ($n=750$) prevalența bolii crește considerabil, până 2.8%. Indivizii tratați cu progestageni ($n=21$) au reprezentat 32.3% din pacienții diabetici. Din aceștia, 14 au fost femele integre (21.5% din 65) cu o vârstă medie de 11.12 ani și greutate medie de 3.1 Kg. Masculii integri, în număr de 7 (10.7% din 65) au avut o medie de vârstă de 9.5 ani și greutate medie de 4.5 Kg.

Anti-inflamatoarele steroidiene au fost administrate la 802 pisici (15.5% din 5175 cazuri), atât castrate/sterilizate cât și integre. Din acestea, un număr de 13 cazuri au fost diagnosticate ulterior cu diabet zaharat, indicând o prevalență de 0.2% pentru totalul populației ($n=5175$). Însă, raportată la populația de interes ($n=802$), prevalența pentru cazurile tratate cu anti-inflamatoare steroidiene a fost de 1.6%. Acestea au reprezentat 20% din pisicile cu diabet zaharat ($n=65$), din care 9 (11.22%) au fost masculi și 4 (4.98%) femele. Incidența cumulativă a diabetului zaharat stabilită pentru indivizii tratați cu progestageni sintetici a fost de 28 cazuri de diabet zaharat la fiecare 1000 de cazuri, sau 1 caz la fiecare 35 de pacienți consultați din grupul în cauză. Pentru indivizii tratați cu anti-inflamatoare steroidiene incidența cumulativă a fost de 16.20 cazuri de diabet la 1000 de pisici, sau de 1 la fiecare 61 cazuri. Rezultatele obținute au reprezentat un indicator important în ceea ce privește impactul administrării antagoniștilor insulinici asupra ratei de apariție a diabetului zaharat felin. Incidența diabetului zaharat la pisicile care nu au primit niciodată progestageni sintetici sau anti-inflamatoare steroidiene a fost semnificativ mai mică, de un caz la fiecare 165 pacienți sau de 6.05 la 1000 pisici. Reprezentarea de 52.3% a pacienților care au primit antagoniști insulinici, indică o necesitate clară a includerii datelor privind administrarea lor în chestionarul anamnetic al pisicilor cu diabet zaharat și evitarea lor la grupurile de risc.

Factorii predispozanți și favorizanți care au stat la baza instalării hiperglicemiei patologice au avut o influență majoră asupra evoluției clinice, a gradului de remisie a bolii și ratei de supraviețuire, acestea fiind prezentate în capitolul VI.3.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
IMPOSIBILITATE



Fondul Social European
PERIOADA 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



OPPOSDRE



USAMV Iași

Rezultatele privind „*Studiul fiziopatologiei diabetului zaharat felin în raport cu factorii cauzali*” oferă informații vitale pentru orientarea modului de abordare a fiecărui caz în parte în raport cu semnele clinice și complicațiile aferente diabetului zaharat. Evaluarea statusului clinic a 65 de pisici a inclus datele anamnetice, înregistrarea bolilor diagnosticate anterior și a tratamentelor adiacente.

Diabetul subclinic a fost identificat la 6 (9.2%) indivizii, aflați în stadiul incipient al bolii, aceștia fiind identificați fie în urma unor controale de rutină, fie prezentați în alte scopuri. Forma clinică a fost observată la 12 pacienți (18.4%), iar semnele au variat de la manifestări evidente de PU/PD marcante, polifagie alternată cu un apetit capricios și pierdere în greutate, la constipație și episoade frecvente de vomă. Diabetul complicat a fost observat la un număr de 38 (58.46%) de pacienți, aceștia fiind prezentați într-un stadiu avansat al bolii. Faza comatoasă a fost observată la 9 (13.8%) pacienți fiind prezentați pentru consultație în faze critice, cu lipidoză hepatică și acidoză metabolică severă și insuficiențe organice de diferite grade.

Tot în subcapitolul VI.3 au fost prezentate cele mai importante condiții fiziopatologice secundare hiperglicemiei persistente, cum sunt neuropatia periferică, întâlnită la 8% din cazurile de diabet zaharat felin și cataracta, observată doar la 1.5% din pacienți. Ateroscleroza coronariană și nefropatia diabetică sunt complicații caracteristice diabetului zaharat uman, încă nedovedite cu certitudine în patologia felină. Afecțiunile cordului precum și insuficiența renală de diferite grade au fost asociate cu 9.2% (n=6) din cazurile de diabet zaharat felin.

O importanță majoră a fost acordată hipersomatotropismului/acromegaliei, în literatura de specialitate boala fiind asociată în proporție de 100% cu diabetul zaharat felin. Acromegalia (hipersomatotropismul), a stat la baza instalării diabetului zaharat insulinorezistent a 3% (n=2) din cazurile evaluate. Pentru unul din pacienții acromegalici, marcarea imunohistochimică a proteinei p53, un important marker al carcinogenezei, a evidențiat un răspuns intens pozitiv în nucleii țesuturilor prelevate din glanda pituitară, lobii hepatici și una din glandele submandibulare. Datele raportate în studiul de caz aduc fiziopatologia endocrinopatiilor feline mai aproape de cea umană, prin evidențierea posibilității existenței unui risc crescut de dezvoltare a unor forme de cancer. Datorită implicării majore a hipersomatotropismului felin în incidența diabetului zaharat și a limitărilor întâmpinate în stabilirea diagnosticului, cercetările s-au îndreptat spre validarea unui test imunoenzimatic pentru determinarea factorilor de creștere.



Capitolul V este structurat în două subcapitole, și se axează pe „*Cercetări privind diagnosticul diabetului zaharat și a unor endocrinopatii cu potențial diabetogen la pisică*”.

În primul subcapitol, *V.1.*, este descrisă „*Evaluarea performanței analitice și de diagnostic a unui test enzimatic ELISA pentru dozarea insulin-like growth factor-1 la pisicile diabetice*”. Activitatea de cercetare proprie a vizat performanța analitică a unui test imunoenzimatic cantitativ de uz uman, pentru dozarea IGF-1 la pisicile cu diabet zaharat secundar acromegaliei. Validarea testului a inclus: gradul de recuperare a compusului după diluție, testarea liniarității, determinarea coeficientului de variație intra și inter-test, efectul hiperlipidemiei, hiperhemoglobinemiei și hiperbilirubinemiei asupra concentrației bazale, stabilitatea IGF-1 în plasmă și ser până la 48h și limita de detecție în probele analizate.

Media recuperării IGF-1 la amestecarea concentrațiilor ridicate cu cele scăzute s-a dovedit a fi de 101.1+/-13.9SD% (ser) și 93.7%+/-6.4SD% (plasmă). Linearitatea diluțiilor seriate atât a serului cât și a plasmelor a demonstrat cu un coeficient de corelație (R^2) de 0.96 (ser) și 0.96 (plasmă). Coeficientul de variație intra-test (media+/-deviația standard) a fost de 9.5+/-1.65% (ser) și 13.6+/-7.16% (plasmă), iar media variației inter-test a fost de 11.4+/-4.3 % (ser) și 7.6+/-6.37% (plasma). Un nivel redus până la marcant al lipidemiei, hemoglobinemiei și bilirubinemiei au cauzat alterări minime în concentrația de IGF-1 din ser (8.54+/-8.60%, 4.02+/-8.98%, 7.09+/-8.59%), aceste modificări fiind lipsite de importanță. Întârzierea analizării și stocarea la temperatura camerei nu au indicat alterări majore după 24 de ore, cu toate că o creștere marcantă a IGF-1 după 48 de ore a fost observată în probele de ser ($p=0.003$) (compararea alterării concentrației de IGF-1 în probele de ser, a valorii de referință de la 0 ore cu cea de la 24 de ore: 10.14+/-16.34 SD%, și 48 de ore: 54.32+/-18.36 SD%). Analiza întârziată și stocarea la temperatura camerei nu au evidențiat modificări semnificative în probele de plasmă la 24 sau 48 de ore ($p=0.23$) (modificarea concentrației de IGF-1 din probele de plasmă, comparativ cu 0 ore, la 24 ore: 0.11+/-10.53 SD%, la 48 ore: 9.16+/- 9.87 SD%). Limita de detecție calculată a fost de 71.34 ng/ml.

Analiza ROC a indicat o arie în interiorul curbei de 0.99 pentru ser. De asemenea a indicat o înaltă acuratețe de diagnostic pentru determinarea IGF-1 din probele de ser cu o limită de diagnostic la 997 ng/ml (ELISA) atunci când este utilizat pentru confirmarea acromegaliei la pisicile diabetice [sensibilitate, 100%; specificitate, 88.1%]. În cazul plasmei, aria în interiorul curbei a fost



mai redusă (0.93). Limita de diagnostic pentru IGF-1 determinat din probele de plasma a fost stabilită la 1013 ng/ml [sensibilitate, 100%; specificitate, 72.2%].

Cercetările au urmărit validarea unui test ELISA pentru măsurarea IGF-1 pentru utilizarea la pisicile diabetice, dar în special o alternativă a testului RIA, singurul considerat valid la ora actuală. Dozarea IGF-1 are o semnificație clinică relevantă în medicina felinei, hipersomatotropismul fiind o cauză relativ comună a diabetului zaharat felin, diagnosticul fiind împiedicat de disponibilitatea limitată și costurile ridicate ale testelor pentru dozarea hormonilor, precum și necesitatea implicării substanțelor radioactive. După evidențierea concentrației crescute de GH și/sau IGF-1 și a posibilității prezenței acromegaliei, se recomandă confirmarea diagnosticului cu ajutorul metodelor imagistice, pentru demonstrarea creșterii în volum a glandei pituitare, ceea ce face ca protocolul de diagnostic să fie și mai costisitor. Astfel, orice mijloc de reducere a costurilor diagnosticului, inclusiv înlocuirea testului RIA cu ELISA, poate fi considerat util de către medicii veterinari.

Determinarea IGF-1 felin din ser și plasmă prin sistemul ELISA beneficiază de acuratețe și precizie înalte. Recuperarea IGF-1 în cadrul diluțiilor s-a încadrat în linii mari între 80% și 120%, cu o medie 101% pentru ser și 94% plasma, acestea fiind considerate a fi în limite normale. Media coeficientului de variație intra- și inter-test a fost mai mică de 15%, încadrându-se în limitele de siguranță. Studiul de față a demonstrat o valoare a ariei în interiorul curbei de 0.99 pentru probele de ser și 0.93 pentru probele de plasmă, demonstrând precizie de diagnostic excelentă. Screeningul pentru hipersomatotropism a fost recomandat pe baza prevalenței relativ înalte la pisicile diabetice, a fenotipului variabil și de cele mai multe ori subtil a pisicilor care suferă de hipersomatotropism, a impactului major produs asupra inuslinoterapiei și a prognosticului atunci când se dovedește ca acromegalia stă la baza diabetului zaharat la pisică. Testul validat poate fi utilizat cu ușurință în laboratoarele medicale veterinare, în studii experimentale precum și proiecte de cercetare, având o disponibilitate comercială ridicată.

Rezultatele obținute în cadrul cercetărilor privind etiopatogeneza diabetului zaharat au indicat asocierea bolii cu o serie de afecțiuni cu evoluție insidioasă, ce impun mari dificultăți în controlul și restabilirea glicemiei. În acest scop în capitolul V.2 a fost dezvoltat un panou de diagnostic diferențial, cu o înaltă aplicabilitate clinică, acesta având capacitatea de a puncta toate afecțiunile primare sau secundare asociate cu hiperglicemia patologică susținută.



În capitolul V.2. „Îmbunătățirea sistemului de diagnostic diferențial în diabetul zaharat felin”, a fost dezvoltat un Sistem Suport Decizional (Decision Support System (DSS)) care are ca scop asistarea, ghidarea precum și confirmarea rezoluțiilor clinicienilor în stabilirea diagnosticului de certitudine. Programul DSS a fost implementat prin analiza fișelor medicale a 29 de pisici diagnosticate cu diabet zaharat, cu ajutorul softului Matlab (Versiunea 2013a), acesta fiind reprezentat de un mediu interactiv și cu un limbaj de nivel înalt. Structura de bază a programului este formată din informațiile furnizate de literatura de specialitate și experți în domeniu, datele pacienților și seturi de situații posibile ce pot fi întâlnite în mediul clinic, toate structurate într-o manieră etapizată, urmate de interferența bazelor de date și furnizarea unei concluzii finale. O discriminare a întregului panou de afecțiuni întâlnite în patologia felină a fost realizată prin startul schemei de diagnostic de la sindromul de PU/PD. Generarea tuturor tipurilor de diagnostic se realizează în cascadă, numai după parcurgerea unui set de reguli logice, cu un grad redus de eroare și parcurgerea unui set de date decizionale

Din panoul formelor de diabet zaharat, setul de diagnostice ce pot fi generate de către programul DSS, include: a) Diabet zaharat primar necomplicat; b) Diabet zaharat indus sau asociat cu endocrinopatii ca: (b.1) hipersomatotropism, (b.2) hipertiroidism, (b.3) hiperadrenocorticism, (b.4) medicație cu potențial diabetogen (iatrogen); c) Diabet zaharat indus sau asociat cu insuficiențe organice: (c.1) insuficiență renală cronică/acută, (c.2) insuficiență cardiacă; d) Diabetul zaharat ceto-acidotic; e) Pancreatite; d) Sindrom Fanconi. Sistemul DSS a fost aplicat cu succes în toate cele 29 de cazuri, generând următoarele diagnostice/număr de cazuri: (a) – 8, (b.1) – 2, (b.4) – 9, (c.1) – 3, (c.2) – 3, (d) – 4. Pentru boli care nu au fost diagnosticate la cei 29 de pacienți au fost făcute o serie de simulări, ghidate după datele din literatura de specialitate, rezultatele dovedind aceeași acuratețe înaltă.

Scopul dezvoltării DSS a fost de a concentra într-o manieră logică cunoștințele și raționalizarea experților în diabetul zaharat felin și a maximiza fiabilitatea deciziilor. Gradul ridicat de noutate al programului DSS construit reiese din capacitatea acestuia de a direcționa efectuarea diagnosticului diferențial, cuprinzând toate endocrinopatiile cu potențial diabetogen precum și afecțiunile probabile incluse în panoul de diagnostic diferențial, asociate hiperglicemiei patologice. Acesta sprijină diagnosticul de certitudine pentru afecțiuni care uneori pot fi greu de depistat la un prim examen clinic, menajarea terapeutică adecvată a pacienților și recuperarea acestora.



Panoul de „*Cercetări privind terapia diabetului zaharat la pisică*” sunt redat în capitolul VI, structurat în trei subcapitole . Primul subcapitol VI.1 vizează abordarea ideală a protocolului terapeutic, atât pentru pacienții diabetici aflați într-o stări clinice stabile, cât și pentru cei diagnosticați tardiv.

Pentru pacienții subclinici, clinici și stabiliizați terapeutic, insulinoterapia s-a bazat pe analogi cu acțiune intermediară și lentă, plecând de la o doză minimă eficientă de 0.25UI/kg administrată de două ori pe zi. Evoluția ideală a dinamicii glucoză-insulină a avut un vârf de acțiune la 6-8h, un nadir în intervalul 100-170 mg/dl și o durată de 10-12h post-administrare. Pentru formele complicate ale bolii terapia s-a axat pe insulină regulată cu acțiune rapidă și durată scurtă de acțiune, administrată până la rezoluției cetonuriei.

Terapia diabetului ceto-acidotic a avut la bază corectarea pH-ului sangvin prin suplimentarea iv cu soluții de bicarbonat, necesarul fiind calculat în raport nivelul plasmatic de bicarbonat (<12 mEq/L) sau concentrația totală a dioxidului de carbon venos (<12 mmol/l), $[HCO_3^- (mEq) = greutate\ corporala(kg) \times 0.4 \times (12 - bicarbonatul\ determinat) \times 0.5]$. Corectarea hiperosmolarității $[Osmolaritate = (2 \times natriemie_{mEq/l}) + (Gl_{mg/dl}/18) + (uree_{mg/dl}/2.8)]$ (>350 mOsm/kg) s-a bazat strict pe soluții saline 0.9% administrate gradual, pe parcursul a 48h. Pentru lipidoza hepatică terapia specifică a avut ca scop principal stoparea mobilizării lipidice, prin alimentarea enterală asistată, plecând de la 5 kcal/kg/24h în prima zi de terapie, până la 50 kcal/kg/24h în a noua zi. Terapia medicamentoasă a necesitat administrarea de L-carnitină (250-500mg/kg/zi și stimulanti ai secreției de glutatone ca S-Adenosylmethionine - 20 mg/kg/zi și N-Acetylcysteina 70 mg/kg). Fluidoterapia s-a bazat strict pe soluții saline 0.9% suplimentate cu K. Nu au fost administrate lichide lactate (agradează lipidoza hepatică), cu componentă glucidică (potențează acumularea de lipide în ficat) sau dextroză (inhibă oxidarea acizilor grași). Hipokaliemia (<3.5 mEq/L) a fost redresată în funcție de nivelul seric al potasiului $[mg = (mEq \times greutatea\ atomică)/valența]$. În forma severă s-au administrat doze de 0.22 mEq/L - 1 mEq/kg/h până la întoarcerea la parametrii normali.

Panoul actual pentru terapia și monitorizarea diabetului zaharat presupune costuri ridicate și alocarea unui timp îndelungat pentru stabilirea necesarului de insulină. În acest scop au fost dezvoltate două metode predictive pentru estimarea necesarului insulinic.



Studiul dezvoltat în capitolul VI. 2 urmărește „*Dezvoltarea unui predictor bazat pe model de tip rețea neuronală pentru controlul individualizat al glicemiei în terapia diabetului zaharat felin*”.

Abordarea utilizează două modele de rețele neuronale artificiale, construite în baza datelor obținute prin monitorizarea unui lot de șobolani albi Wistar la care s-a indus artificial diabetul zaharat de tip I, prin injectarea intraperitoneală a 50 mg/kg a streptozotocinei, o substanță cu toxicitate selectivă pentru celulele β pancreatice. Acest tip de model, aflat în curs de dezvoltare, a fost validat utilizând informațiile înregistrate în timpul manevrelor clinice și terapeutice ale pacienților cu diabet zaharat insulinodependent.

Rețelele neuronale artificiale au fost proiectate utilizând modul de organizare și funcționare a sistemului nervos uman, conținând un număr de unități simple puternic interconectate, denumite neuroni. Acestea pot fi privite ca structuri de procesare paralele și distribuite a informației și pot fi considerate soluția potrivită pentru modelarea sistemelor biologice complexe. O rețea neuronală învață să reprezinte mai multe caracteristici ale mediului din care primește informații, învățarea fiind reprezentată de formarea unor noi sinapse și/sau modificarea celor existente, proces prin care parametrii rețelei sunt adaptați în mod continuu, ca urmare a stimulărilor pe care le primește din partea mediului. Construcția unei rețele neuronale se bazează pe straturi de neuroni, conexiunile existente între neuronii aparținând aceluiași strat fiind denumite „laterale”, cele din stratul precedent „înapoi”, iar cele din stratul următor „înainte”. Rețelele neuronale care admit numai conexiuni înainte realizează un transfer static de informație între intrări și ieșiri și se numesc rețele cu „*transmitere înainte a informației*” sau „*feedforward neural networks*”.

Au fost considerate două tipuri de rețele *feedforward* denumite *Multi-Layer Perception* și *Radial Basis Function*. Informațiile obținute de la șobolani diabetici au fost analizate și filtrate pentru înlăturarea datelor cu variații înalte. Grupul a fost caracterizat printr-o comportare medie, pentru fiecare individ fiind calculată eroarea în sensul celor mai mici pătrate față de medie. Acest criteriu a identificat indivizii a căror comportare nu s-a înscris în media grupului. Valorile obținute au fost analizate din punct de vedere statistic, iar eventualele date care nu s-au încadrat în criteriile de medie și dispersie au fost eliminate.

Arhitectura neurală a fost una simplistă, cu un singur strat ascuns și maxim 12 neuroni, fără includerea neuronilor saturați. În prima etapă, rețelele neurale au fost antrenate utilizând



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
IMPOSIBIL



Fondul Social European
POSDREI 2007-2013



Instruminte Structurale
2007-2013



OPPOSDRE



USAMV Iași

măsurătorile determinate de la fiecare din cei șase șobolani. Următorul pas a constat în validarea modelelor cu ajutorul informațiilor furnizate de pisicile cu diabet zaharat.

Pentru estimarea dinamicii glucoză-insulină, au fost administrate diferite doze și tipuri de insulină. Acestea au inclus insulină cu acțiune lentă de tip glargin, urmată de insulină cu acțiune intermediară de tip isophan și mixtă. Datele considerate pentru înregistrarea dinamicii glucoză-insulină au inclus doza și tipul de insulină, cantitatea de hrană consumată și variațiile glicemiei la fiecare 60 de minute, pe o perioadă de 24 de ore, pentru fiecare individ în parte, înregistrând un timp de lucru total de 432h. Insulina a fost administrată de două ori pe zi, la interval de 12 ore, iar hrana a fost oferită ad-libitum pentru a imita insulinoterapia și comportamentul de hrănire al pisicilor. Pentru fiecare tip de insulină a fost realizată o scalare a datelor, prin divizarea informațiilor pentru fiecare individ la valoarea inițială a glicemiei. Astfel datele au devenit adimensionale și s-au calculat caracteristici numerice relevante.

Odată antrenate, s-a observat că ambele rețele neuronale se pot utiliza pentru a predicta pe termen scurt și mediu evoluția glicemiei după administrarea insulinei. Pentru validare au fost realizate teste multiple pe un eșantion de 46 pisici diabetice, predicțiile rețelelor neuronale fiind comparate cu datele reale înregistrate de la fiecare pacient. Utilizând criteriul de normalizare a erorii mediei pătrate, cu un prag egal cu 0.01, a rezultat că pentru 84.78% din cazuri, predicțiile evoluției glicemiei au fost corecte, cu un grad de încredere a predicției celor două modele de 91.63%.

Atât modelul *Multi-Layer Perceptron* cât și *Radial Basis Function* au dovedit o bună performanță la utilizarea ca predictor ai dinamicii glicemiei post-insulină pentru fiecare tip de insulină. Stabilirea unei doze optime de insulină elimină glucotoxicitatea și oferă posibilitatea celulelor β de a-și relua capacitatea secretorie, proces prin care diabetul zaharat de tip II poate remite. Insulinoterapia în diabetul zaharat felin impune dificultăți decizionale majore datorită interferenței factorilor perturbanți, cum sunt aportul caloric, efortul fizic variabil, existența factorilor stresanți, boli asociate și/sau medicații adiacente, ce induc modificări majore frecvente în necesarul de insulină. Cercetările propun diferite tehnici de modelare, abordate cu predilecție în medicina umană, ce încearcă să deprindă cât mai mult posibil proprietățile biologice ale sistemului glucoză-insulină și să genereze un model comportamental cu acuratețe înaltă. Predicțiile privind dinamica glucozei la pisicile diabetice sunt importante pentru optimizarea inputului insulinic exogen, astfel încât episoadele de hipoglicemie, respectiv hiperglicemie să poată fi evitate.



În subcapitolul VI.3 s-a urmărit dezvoltarea unui protocol de administrare a insulinei bazat pe model matematic. „Proiectarea unui model *in silico* matematic cu performanță înaltă pentru predicția dinamicii glucozei postinsulină la pisicile diabetice”. a fost motivată ca și în capitolul anterior, de necesitatea unui algoritm pentru predicția alterării glicemiei postinsulină la orice doză administrată în compartimentul subcutanat.

Modelul include efectivitatea glucozei (S_G) și sensibilitatea insulinei (S_I), doi parametri cu importanță majoră. Efectivitatea glucozei este definită ca o abilitate a glucozei de a-și promova propria preluare intracelulară în prezența unei concentrații plasmatice crescute de glucoză, în timp ce sensibilitatea insulinei reprezintă capacitatea insulinei de a spori efectivitatea glucozei. Modelul *in silico* predictiv presupune o adaptare pentru fiecare pacient nou luat sub observație. În cadrul studiului au fost incluse pentru monitorizare glicemică continuă și analiză a datelor un număr de trei pisici nou diagnosticate cu diabet zaharat insulinodependent, stabile din punct de vedere clinic și la care a fost inițiat protocolul de tratament cu insulină. Sistemul glucoză-insulină poate fi divizat în trei subsisteme, cel de insulină, cel de glucoză și cel de interacțiune a glucozei cu insulina. Subsistemul insulină urmărește descrierea absorbției insulinei din depozitele formate în compartimentul subcutanat iar subsistemul glucoză descrie absorbția glucozei postprandiale.

Metoda adaptată încearcă să prezică dinamica insulinei, prin rata de dispariție din sânge a glucozei. Predicția dinamicii glucoză-insulină presupune o multitudine de date nonlineare și corelarea cu un model multiparametric. Valorile de eficacitate a glucozei și sensibilitatea insulinei au fost estimate pornind de la un model de bază raportat în literatura de specialitate și pe baza dinamicii glucoză-insulină observată la un lot de șobolani Wistar insulinodependenți. Pentru parametrii de bază, au fost stabilite următoarele limitele: $S_G = (1.4 \pm 0.3) \times 10^{-2} / \text{min}$, $S_I = (0.58 \pm 0.16) \times 10^{-4} \text{ LmU}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Stabilirea empirică a parametrilor atrage după sine deficiențe reale în acuratețea predicțiilor generate.

Abordarea propusă a generat un model matematic care a avut capacitatea de a prezice alterările glicemiei în baza dozei de insulină, oferind un control adecvat și minimizând riscurile de hipoglicemie pentru cazurile luate în studiu.



ROMANIA EUROPEANA



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
IMPOSDRE



Fondul Social European
POSDRE 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OPOSDRE



USAMV Iași

Capitolul VII prezintă ”*Concluziile generale*” ale tezei și recomandările pentru diferite manevre clinice și paraclinice privind diabetul zaharat felin. Datele prezentate în cadrul lucrării dețin un grad ridicat de noutate, cu posibilitatea extinderii acestora atât în diabetologia felină cât și cea umană. Rezoluțiile finale au o aplicabilitate clinică ridicată și se adresează cercetătorilor, clinicienilor și studenților din domeniul medical veterinar. Validitatea datelor este susținută de dezvoltarea cercetărilor pe un număr mare de pacienți, de corelarea informațiilor furnizate de aceștia cu cele obținute de la subiecții de laborator și verificarea rezultatelor prin sisteme computerizate și algoritmi matematici.

Scopul cercetărilor urmărește fidel subiectele abordate la ora actuală privind diabetul zaharat, oferind rezultate interpretative, cu un grad de dezvoltare nelimitat.