

# Proinsulina – semnificația ei patogenetică și diagnostică

## PROINSULIN – PATHOGENIC AND DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

C. Ionescu-Tîrgoviște

Institutul Național de Diabet, Nutriție și Boli Metabolice „N.C. Paulescu”, București

### INTRODUCERE

Patologia metabolică, care include obezitatea, sindromul metabolic, tipul 2 de diabet și consecințele acestora: bolile degenerative vasculare, neurologice, reumatismale, neoplaziile, dar și îmbătrânirea precoce, au ajuns în prim planul preocupărilor multor instituții internaționale medicale, dar și ale Națiunilor Unite, care o consideră o amenințare globală la supraviețuirea speciei umane.

Dintre toate afecțiunile menționate, vârful de lance al acestei patologii este reprezentat de **tipul 2 de diabet**, una dintre cele mai studiate afecțiuni din ultimii ani. Justificarea acestui interes este simplă: în ultimii 50 de ani diabetul s-a triplat, previzionându-se că în următoarele 2 decenii vor exista pe glob jumătate de miliard de pacienți diabetici. Personal, consider că îngrijorarea ar trebui să fie încă și mai mare față de numărul de supraponderali și obezi care în aceeași perioadă de timp va afecta aproximativ 2 miliarde de persoane. Această îngrijorare este justificată de asocierea clară dintre creșterea prevalenței diabetului de tip 2 și creșterea prevalenței obezității.

Esența patogeniei diabetului zaharat este rezultatul afectării progresive a sistemelor care asigură homeostazia energetică a organismului. Cel mai important dintre componentele acestui sistem este reprezentat de insulele pancreatice Langerhans, unde se găsesc celulele  $\beta$ -pancreatice secretoare de insulină. Urmează apoi cele trei principale organe/țesuturi/celule insulino-dependente, și anume: ficatul (principalul organ de prelucrare a carburanților energetici), mușchiul scheletic (care ar trebui să fie

principalul consumator de carburanți, dar care în prezent consumă din ce în ce mai puțin datorită stilului modern de viață) și țesutul adipos (cel mai sofisticat „depozit” de „carburanți”, sub formă de trigliceride, la rândul lor provenite nu numai din lipidele ingerate, dar și din proteinele sau glucidele aflate în exces în organism din cauza fie aportului lor excesiv, fie insuficienței lor utilizări din cauza sedentarismului) (1).

**Aristotel (384-322 î. Hr): „A ști înseamnă a cunoaște cauza”**

Una din preocupările personale din ultimii 10 ani a fost aceea a identificării „**cauzei primare a diabetului zaharat**”, considerând că numai cunoscând cauzele apariției acestui flagel modern pot fi identificate măsurile preventive eficiente, iar până atunci a alegerii tratamentului patogenetic cel mai adecvat cunoștințelor timpului în care trăim.

Una din informațiile importante pe care le-am sintetizat în 2007 (2) a fost aceea că principalul defect asociat cu tipul 2 de diabet este defectul secretor  $\beta$ -celular și nu insulino-rezistenței periferice așa cum se afirmă uneori. Acest lucru a fost confirmat după anul 2000 de mai mulți autori (3-6). Din aceste date s-a putut constata că în momentul decompensării reglării glicemice (adică a diagnosticului de diabet zaharat) mai mult de 50% din funcția/masa  $\beta$ -celulară este deja iremediabil pierdută. Concluzia noastră a fost aceea că diabetogeneza începe cu mult timp înainte ca noi să punem diagnosticul de diabet, **hiperglicemia** fiind un **epifenomen** tardiv al unui proces diabetogen care acționează de-a lungul mai multor ani sau chiar decenii.

Adresa de corespondență:

C. Ionescu-Tîrgoviște, Institutul Național de Diabet, Nutriție și Boli Metabolice „N.C. Paulescu”, Str. Ion Movilă nr. 5-7, București

După o analiză atentă a structurii și funcției  $\beta$ -celulare am constatat că ceea ce domina pe o secțiune a unei celule  $\beta$ -pancreatice este numărul mare de vezicule secretorii al căror număr este de ~12-13.000/celulă. Aceste vezicule iau naștere în reticulul endoplasmic/aparatul Golgi din celulele  $\beta$ -pancreatice. Inițial ele sunt vezicule primitive, urmând a trece prin mai multe etape în cursul cărora ele suferă o serie de transformări prin care, din vezicule imature, ele devin vezicule mature, singurele capabile să fie excitate prompt și eficient. În diabetul zaharat s-a constatat că acest proces de maturare nu se realizează complet. Caracteristica lor principală este aceea că un procent din ce în ce mai mare de proinsulină rămâne nesplitat în insulina și peptid C. Acest lucru va avea două consecințe: proinsulina va crește în interiorul celulei  $\beta$ -pancreatice, scăzându-le funcția și durata de supraviețuire; concentrația plasmatică a proinsulinei crește, devenind un indicator fidel al disfuncției  $\beta$ -celulare. Iată de ce, am considerat că principala caracteristică a celulei  $\beta$ -pancreatice nu este aceea de a fi o simplă „*fabrică de insulină*” (7), ci o „*fabrică de celule secretorii mature*”.

În ultimii 10 ani am publicat numeroase lucrări în care am analizat nivelul proinsulinei plasmatică în raport cu insulina, adiponectina sau cu alți markeri biochimici importanți pentru înțelegerea patogeniei diabetului zaharat (8-24).

În cele ce urmează vom trece în revistă câteva din datele mai semnificative legate de semnificația patogenetică și diagnostică a proinsulinei  $\beta$ -celulare și plasmatică.

1. Proinsulina este o moleculă intermediară care provine din desprinderea în câteva zeci de secunde a peptidului semnal (25 aminoacizi), din molecula de proinsulină și care, prin splitarea ei enzimatică (mediată de proconvertazele 1/3 și 2 și de carboxipeptidaza H), conduce la formarea insulinei și a peptidului C (Fig. 1).

2. În celula  $\beta$ -pancreatică, dar și în circulația sistemică, proinsulina este o moleculă tot atât de normală cum este glucoza sau insulina. Atât creșterea, cât și scăderea insulinei ori a glucozei în sânge se asociază cu tulburări importante: *hipoglicemie* sau *hiperglicemie*, iar în cazul insulinei, *hipoinsulinemie* sau *hiperinsulinemie*. Hipoinsulinemia se datorează adesea incompletei splitări a proinsulinei, a cărei concentrație în celula  $\beta$ -pancreatică rămâne crescută. În circulația sistemică proinsulina are un timp de înjumătățire mai lung decât al insulinei, motiv pentru care concentrația sa plasmatică este mai constantă decât cea a insulinei.

3. Procesul de „maturare” al insulinei, care presupune numeroase modificări posttranslaționale, are loc începând din reticulul endoplasmic și se termină în final în veziculele secretorii (VS), acestea din urmă fiind, după cum arătam, produsul final al celulei  $\beta$ -pancreatice.

4. O veziculă secretorie matură presupune splitarea proinsulinei într-un procent mai mare de 97% și, evident, o cantitate mare de insulină „matură” și o concentrație mică de proinsulină nesplitată. Acest proces este mediat de enzimele menționate mai sus, care acționează la un pH acid (5-5,5). Aceasta permite

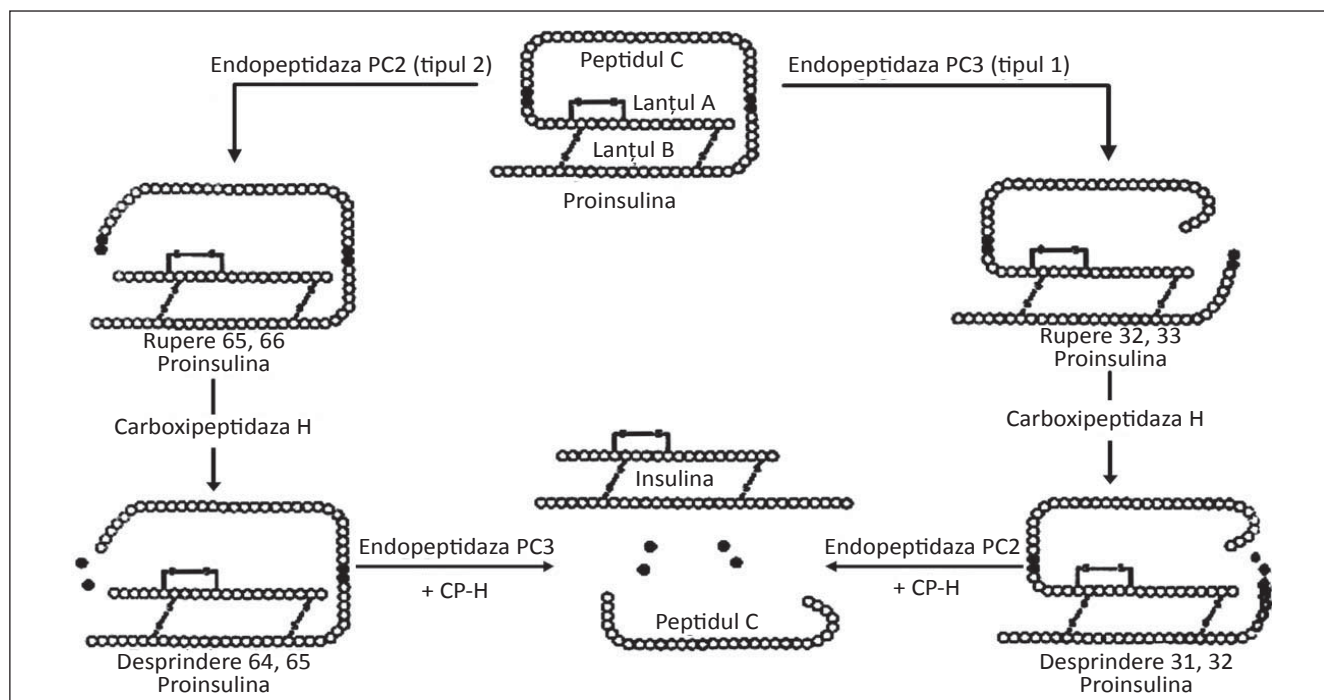


Figura 1. Etapele transformării proinsulinei în insulină și peptid C

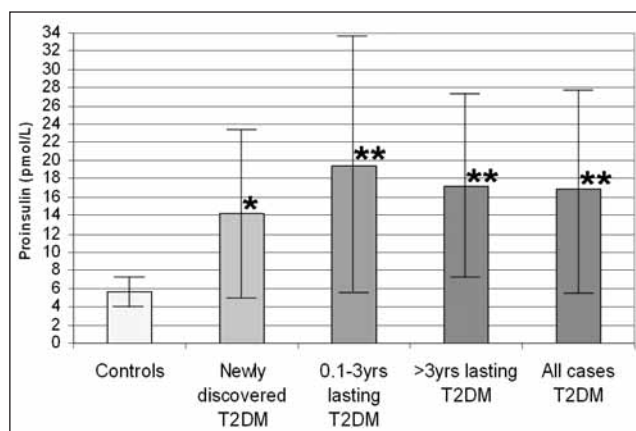
formarea hexamerilor de insulină cu ajutorul a doi atomi de zinc. Mediul acid intravezicular este asigurat de *pompa de protoni* localizată în membrana veziculei secretorii. *Transportorul de zinc* (Zn-T8), de asemenea, aflat în membrana veziculei secretorii va asigura concentrația optimă de zinc în celulă. În interiorul veziculei secretorii se găsesc și alți ioni; important pentru exocitoză este ionul de calciu. O astfel de veziculă secretorie matură apare la microscopul electronic ca având un centru electronodens intens și bine delimitat, înconjurat de un halou translucid în care se găsesc dizolvate peptidul C, amilina, proinsulina intactă, enzimele specifice, molecule proteice chaperonice și alte mici peptide cu funcție necunoscută. Numai o astfel de veziculă secretorie este capabilă să răspundă prompt și eficient la stimulul fiziologic hiperglicemic, precum și la alți stimuli de natură biochimică (aminoacizi, acizi grași) sau de natură hormonală (glucagon, de exemplu). Promptitudinea răspunsului insulino-secretor la glucoză este atestată de prezența vârfului insulino-secretor „precoce” (3-8 min.), după injectare i.v. de glucoză, care mobilizează veziculele secretorii aflate în compartimentul „ready to be excited” (25). Evident, acestea sunt vezicule secretorii mature. Durata necesară atingerii vârfului maxim insulino-secretor la ~5 min presupune parcurgerea unui șir de evenimente succesive: după injectarea intravenoasă a glucozei (ori a altui secretagog ca arginina sau glucagonul) într-o venă periferică, sângele trebuie să parcurgă întregul ciclu din sistemul venos către sistemul arterial. Pătrunderea substanței stimulante prin arterele pancreatice, în complexa rețea de capilare care formează insula pancreatică, crește glucoza în jurul celulei  $\beta$ -pancreatice. Aceasta trebuie să fie transportată în celula  $\beta$ -pancreatică cu ajutorul transportorului „GLUT2” care se deplasează din interiorul celulei în membrana celulară, facilitând trecerea glucozei în celula  $\beta$ -pancreatică. Aceasta va declanșa glicoliza anaerobă, apoi cea aerobă (fosforilările oxidative mitocondriale) cu generarea moleculelor de ATP, care vor crește raportul ATP/ADP, închizând canalul de KATP. Acesta va depolariza membrana celulară (scăderea de la -30 la -70 mV), fapt ce va deschide canalele de Ca VOLT. Întrucât concentrația de Ca extracelular este mult mai mare decât cea intracelulară, acest cation va invade celula  $\beta$ -pancreatică declanșând mașinăria excitotoxică formată din molecule actomiozinice care permit contactul veziculelor secretorii cu membrana celulară și expulzarea conținutului acestora (cca 200.000 de molecule de insulină/veziculă). Insulina prezentă în spațiul extracelular insular va fi preluată în vena portă care conduce insulina în ficat, acolo unde ½ din cantitatea de insulină va fi utilizată și în final

preteolizată. Restul insulinei posthepatice va ajunge în circulația sistemică unde va putea fi determinată după un interval de 3 până la 8 minute, când vârful insulino-secretor este maximal. Dat fiind intervalul destul de mare, 3-8 min, s-a convenit ca prelevarea sângelui pentru determinarea insulinei să se facă în intervalul 5-10 min după introducerea intravenoasă a glucozei, aceasta fiind perioada în care insulina plasmatică rămâne la o concentrație crescută. Intervalul relativ mare în care poate fi înregistrată creșterea maximală a insulinei poate fi explicat prin heterogenitatea mare a insulelor pancreatice care nu sunt toate activate în același timp. În plus, trebuie avută în vedere sensibilitatea diferită inter-individuală a celulei  $\beta$ -pancreatice la stimulul insulino-secretor la individul considerat nediatetic. Faza a doua insulino-secretorie debutează odată cu faza întâi, dar se manifestă numai după 15-20 min atingând maximul după 30-45 min, adică atât timp cât nivelul glucozei plasmatică este mai mare decât nivelul bazal (prestimulare) al glucozei (26). Testarea vârfului insulino-secretor precoce poate fi evaluată și după încărcarea orală cu glucoză (75 g), vârful insulino-secretor este apreciat prin determinarea insulinei la timpul 0 și 30 min. Valoarea de la 30 min. corespunde vârfului insulino-secretor precoce.

5. O veziculă secretorie „imatură” care conține un procent de proinsulină mai mare de 5-10% (uneori ajungând până la 50%), prin însăși imaturitatea ei, nu va putea răspunde prompt și eficient la stimulul glicemic, astfel încât vârful insulino-secretor precoce este scăzut sau absent, iar paralelismul dintre creșterea glicemică și răspunsul insulinemic nu se mai păstrează. Așa se explică de ce, chiar și în etapele pre-hiperglicemice ale diabetului, în mod progresiv se înregistrează o scădere a ariei sub curba insulinei în cursul OGTT în paralel cu o creștere marcată a ariei sub curbă a glucozei. La rândul său aceasta scădere exprimă fie un defect funcțional al celulei  $\beta$ -pancreatice fie o scădere a masei (numărului) celulelor  $\beta$  pancreatice, fie a ambelor (20).

6. Creșterea proinsulinei în celula  $\beta$ -pancreatică, care este relativ paralelă cu creșterea proinsulinei în circulația sistemică, poate oferi două informații importante:

- una de ordin patogenetic – aceea că disfuncția secretorie  $\beta$ -celulară exprimă incapacitatea celulei  $\beta$  de a genera vezicule secretorii mature (22).
- alta de ordin diagnostic – rezultă din calculul raportului proinsulină/insulină care crește de la valoarea normală de 0,5-0,7 peste 1 și uneori peste 2. (Fig. 2) Aceasta creștere poate preceda decompensarea reglării glicemice (hiperglicemia à jeun care a rămas încă singurul criteriu de diagnostic al diabetului), cu



**Figura 2. Nivelul proinsulinei în diferite etape evolutive ale diabetului de tip 2**

mulți ani înaintea apariției acesteia. Studiile prospective efectuate la descendenții din părinți diabetici urmăriți 20-25 de ani, au condus la observația că cei care au progresat către diabet în acest interval de timp au avut inițial o valoare a raportului proinsulina/insulina crescut față de non-progresori. Avantajul acestei metode diagnostice constă în faptul că atât glicemia, cât și proinsulina și insulina pot fi determinate într-o singură probă de sânge recoltată à jeun (20,24). Din aceste valori pot fi obținuți și indicii HOMA-R și HOMA-B (cu relativele lor informații), dar și raportul proinsulina/insulina mult mai valoros din punct de vedere diagnostic. Menționăm că determinarea numai a proinsulinei poate oferi o informație diagnostică atunci când concentrația sa plasmatică depășește un anumit nivel (cca 10 pmol/l).

7. Raportul proinsulină/insulină crește progresiv de la persoanele normoponderale la cele supraponderale/ obeze; creșterile sunt și mai evidente la persoanele cu IFG/IGT și apoi la cei cu T2D (diabet tip 2).

8. Întrucât T2D se asociază frecvent cu obezitatea, recent am propus ca indicator precoce al diabetului determinarea raportului proinsulină/adiponectină, prima componentă indicând disfuncția  $\beta$ -celulară, iar cea de-a doua componentă a raportului indicând disfuncția adipocitară. Acest raport crește mai evident întrucât în T2D proinsulina crește progresiv, în timp ce adiponectina scade progresiv.

9. O creștere a raportului proinsulină/insulină (PI/I) a fost înregistrată și la unii pacienți cu T1D. Aceasta creștere, descoperită accidental, ar putea avea următoarea explicație: în paralel cu distrucția celulelor  $\beta$ -pancreatice normale, există un răspuns compensator prin stimularea producerii de noi celule  $\beta$ -pancreatice, care apărute într-un mediu patogen (prezența anticorpilor anti- $\beta$ -celulari) nu vor putea atinge pragul de maturitate, astfel încât înainte de a fi distruse

complet, ele pot încă produce unele cantități de proinsulină, pe care însă nu o va putea procesa pentru a forma vezicule secretorii mature (8,9,11,14). Proinsulina produsă va trece în circulația sistemică unde poate fi regăsită în concentrații crescute, cu efecte vasculare nocive, în special asupra endoteliului vaselor mici (complicații micro-vasculare) (26,27).

10. Efectul patogenetic al proinsulinei plasmatică din T2D vizează, pe de-o parte, capacitatea de supraviețuire a celulei  $\beta$ -pancreatice însăși (disfuncția  $\beta$ -celulară se asociază cu pierderea progresivă a masei  $\beta$ -celulare datorită apoptozei precoce), cât și asupra celulelor endoteliale care posedă receptori pentru insulină, putând fi la originea proceselor degenerative vasculare întâlnite atât în tipul 2 de diabet (considerat a fi o boală cardiovasculară), cât și în sindromul metabolic cunoscut a se asocia frecvent cu boala cardiovasculară (27). Corelația dintre proinsulina plasmatică crescută și patogenia cardiovasculară a fost demonstrată de numeroși autori, inclusiv de datele noastre personale. (27).

11. Caracterul funcțional al celulei  $\beta$  pancreatice (promptitudine și paralelism între creșterea glicemică și răspunsul insulinosecretor) este determinat de „fenotipul neuronal” al acestei celule care exprimă numeroase proteine ce se regăsesc în structurile nervoase. Aceste structuri contribuie la performanțele funcționale de excepție ale celulei  $\beta$ -pancreatice, dar plătesc și costul acestei caracteristici. Primul cost este acela că datorită mecanismelor sale sofisticate de funcționare, celula  $\beta$  devine vulnerabilă la diferite influențe de tip *epigenetic*, care pot apărea oricând pe parcursul vieții. Al doilea cost este legat tot de structura și funcția ei complexă, motiv pentru care o asemenea celulă nu se mai poate replica după vârsta adultă. Date recente au arătat că celula  $\beta$  pancreatică este o celulă post-mitotică (28,29), astfel încât, după vârsta de 20-25 de ani, o celulă  $\beta$ -pancreatică apoptozată nu mai poate fi înlocuită cu o celulă  $\beta$ -pancreatică nouă. Acesta este motivul pentru care diabetul zaharat este considerat a fi o boală progresivă.

12. Fenotipul neuronal al celulei  $\beta$ -pancreatice este atestat și de prezența oscilațiilor insulinosecretorii cu periodicități diferite a căror semnificație fiziologică este incomplet cunoscută (32-35). Substratul lor se află în interiorul celulelor  $\beta$  pancreatice. Încercările de a explica aceste oscilații prin prezența unor influxuri nervoase transmise prin bogata rețea colinergică și adrenergică a insulelor Langerhans (30) au fost infirmate de datele mai recente care au arătat că aceste oscilații se înregistrează și în insulele pancreatice izolate și chiar la celulele  $\beta$ -pancreatice izolate. Rezultă

deci că orarul acestor oscilații insulino-secretorii este înscris în codul genetic al celulei  $\beta$ -pancreatice, posibil dependente de o serie de gene specifice. (30)

13. Sensibilitatea la insulina circulantă este o caracteristică individuală, în mare măsură influențată de numeroși factori endogeni și exogeni dintre care cei mai mulți sunt necunoscuți. La persoanele aparent normale, există o variație de la 1 la 6 între persoanele cele mai sensibile și cele mai puțin sensibile la insulină. Totuși, determinată prin metoda HOMA-R de 3 ori la intervale de 15 min, în condiții de jeun identice, rareori cele 3 valori vor fi superpozabile între ele. Această variabilitate poate fi explicată prin caracterul oscilator al secreției de insulină cât și cel al glicemiei, care este o caracteristică fiziologică cunoscută de multă vreme (31,32,33). În funcție de oscilațiile insulino-secretorii, vor fi înregistrate și mici oscilații glicemice, mai mici decât cele insulinemice datorită intervenției ficatului, care atenuază variațiile glicemice prin funcția de tampon a glicogenului hepatic. Oricum, deviațiile concordante sau discordante între cele două valori pot explica diferențele mai mici sau mai mari obținute prin repetarea determinării lor la intervale scurte de timp.

14. Caracterul progresiv al procesului diabetogen este determinat, pe de-o parte de prezența unor disfuncții insulino-secretorii, atestate de identificarea unui set de cca 60 de gene asociate până în prezent cu T2D (34-37), dar și prin asocierea excesului ponderal, care presupune adăugarea altor căi diabetogene suplimentare: prima este însăși creșterea importantă a masei celulelor insulino-dependente, a căror funcționare solicită o secreție de insulină suplimentară (20); a doua este scăderea secreției de adiponectină care precede și, într-o mare măsură, condiționează accentuarea procesului diabetogen, manifestat în final prin decompensarea progresivă a reglării glicemice (16). Este posibil ca subsetul de persoane obeze care evoluează către diabet să poată fi identificat prin raportul proinsulină/adiponectină crescut. Acest raport poate indica și contribuția celor două componente (celula  $\beta$ -pancreatică și adipocitul) în procesul diabetogen.

15. Întrucât T2D se asociază în cca 90% cu un exces ponderal/obezitate (38), principala măsură preventivă, dovedită ca eficientă, este optimizarea stilului de viață prin creșterea activității fizice în primul rând și prin scăderea aportului caloric în al doilea rând. Scăderea în greutate indică eficiența procesului de optimizare a stilului de viață (39). Este singura etapă în istoria naturală a diabetului când procesul diabetogen ar putea fi oprit sau suficient de mult întârziat, cu efect pozitiv predictibil asupra calității vieții și a duratei de supraviețuire.

16. Scăderea importantă a greutateii poate atenua reacția proinflamatorie de origine adipocitară, adipocitele „agresive” (24) regresând către stadiul de adipocite „neliniștite”, iar cele neliniștite către starea lor naturală de adipocite „liniștite”. Prin secreția lor crescută de adiponectină, adipocitele liniștite (prezente la persoanele normoponderale sau ușor supraponderale – BMI sub 27 kg/m<sup>2</sup> – dar active) pot funcționa ca un puternic mecanism anti-diabetogen, întrucât acest hormon adipocitar stimulează oxidarea acizilor grași nu numai în celula  $\beta$ -pancreatică, dar și în mușchi, ficat și în celulele endoteliale.

17. Ipoteza rolului central al proinsulinei ca indicator al activității diabetogene a fost confirmată încă din 2007-2008 prin asocierea genei TCF7L2 (cea mai puternică genă asociată cu T2D cu o creștere a proinsulinei plasmatică (40)). Mult mai recent, într-un studiu meta-analitic al genelor asociate cu T2D, 9 dintre acestea s-au dovedit a se corela cu proinsulina plasmatică (41), argument important în identificarea mecanismelor moleculare  $\beta$ -celulare, care stau în spatele proinsulinei crescute. Ea poate fi principalul marker accesibil a fi identificat în etapele precoce, prehiperglicemice ale diabetogenezei active.

18. Un argument important în favoarea rolului proinsulinei în patogenia T2D rezultă din interpretarea datelor recente de genetică. Majoritatea acestor gene asociate cu T2D, dintre cele cunoscute ca funcție, codifică molecule prezente în celula  $\beta$ -pancreatică, iar altele prezente atât în celula  $\beta$ -pancreatică, cât și în celula adipocitară (42-45). Întrucât proinsulina crescută în celula  $\beta$ -pancreatică poate rezulta din oricare din defectele moleculelor  $\beta$ -celulare proximale (începând cu procesele care au loc în nucleul celular și continuând în ribozomii asociați moleculelor rRNA, tRNA și mRNA, apoi în reticulul endoplasmic și aparatul Golgi), este evident că splitarea proinsulinei în insulina și peptid C este un eveniment ce poate fi afectat atât în etapele preliminare menționate, cât și procesul de generare a veziculelor secretorii (în veziculele primitive, cu înveliș clatrinic), cât și ulterior în diferitele etape de maturare progresivă a acestor vezicule. Interesant de notat că generarea veziculelor „nascente” se petrece prin trecerea moleculelor din zona *cis* în zona *trans* a aparatului Golgi (17-19). Procesul va fi finalizat însă de-a lungul a 4-5 ore, perioada în care în interiorul veziculei secretorii enzimele și moleculele chaperonice își finalizează intervenția lor asupra proinsulinei. Orice defect în organizarea moleculară a veziculelor secretorii sau în mediul intravezicular (pH, concentrație ionică optimă de zinc și calciu, defecte enzimatic) pot fi o cauză de imaturitate a veziculelor secretorii și în consecință de a se manifesta ca un defect secretor

$\beta$ -celular prin creșterea procentului de proinsulină incomplet splitată.

19. Într-o primă etapă, imaturitatea veziculelor secretorii ar putea fi evidentă în condițiile în care nevoia de insulină a organismului crește, așa cum se întâmplă în cursul sarcinii (aparitia diabetului gestațional), care uneori dispare imediat după sarcină prin înlăturarea acestei nevoi secretorii suplimentare. Interesant de notat că un asemenea defect poate apărea ulterior în cursul unei eventuale sarcini următoare, după care fie regresează, fie se manifestă ulterior ca un diabet zaharat tip 2, după o perioadă mai lungă sau mai scurtă de la ultima naștere. Această evoluție diferită sugerează ca baza genetică a diabetului gestațional este identică cu cea a tipului 2 de diabet, dar și asupra faptului că scăderea în greutate după naștere reprezintă un factor important în prevenirea instalării tipului 2 de diabet la persoane predispuse. Diabetul gestațional mai sugerează că prezența unor

gene diabetogene nu este suficientă pentru apariția T2D, cel mai adesea fiind necesari factori de mediu suplimentari de a căror influență depinde dacă defectul genetic va fi activat sau va rămâne în stare latentă.

În concluzie, datele culese de-a lungul timpului, care au pornit de la observația clinică și au continuat cu cea *biochimică*, apoi *biohormonală* și în final cu cea *genetică*, ne-au condus către ideea că patogenia diabetului zaharat de tip 2 este legată de creșterea proinsulinei intra- $\beta$ -celulare și regasită și în circulația sistemică. Tulburarea prelucrării proinsulinei în celula beta-pancreatică poate depinde de existența unui defect sau al mai multor defecte genetice, așa cum sugerează numărul mare de gene asociate cu tipul 2 de diabet, care la rândul lor sunt asociate cu disfuncția  $\beta$ -celulară. Urmează ca în viitor să identificăm această disfuncție la nivelul moleculelor beta-celulare. Credem că ne aflăm nu departe de acest moment.

## Bibliografie

1. **Ionescu-Tîrgoviște, C.:** Prolegomenon to the European Constitution Book of diabetes mellitus. Proc. Rom. Acad., Series B, 3, p. 179-213, 2008
2. **Ionescu-Tîrgoviște C.** For a new paradigm of diabetes. Rom J Intern Med 45:3-15, 2007
3. **Sakuraba H., Mizukami H., Yagihashi N., Wada R., Hanyu C., Yagihashi S.:** Reduced  $\beta$  cell mass and expression of oxidative stress-related DNA damage in the islet of Japanese Type II diabetic patients. Diabetologia 45:85-96, 2002
4. **Yoon KH, Ko SH, Cho SH et al.:** Selective  $\beta$  cell loss and alpha-cell expansion in patients with Type 2 diabetes mellitus in Korea. J Clin Endocrinol Metab. 88:2300-2308, 2003
5. **Butler A.E., Janson J., Bonner-Weir S. et al.:**  $\beta$ -cell deficit and increased  $\beta$ -cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. Diabetes 52:102-110, 2003
6. **Butler AE, Janson J., Soeller WC, Butler PC:** Increased  $\beta$  cell apoptosis prevents adaptive increase in  $\beta$  cell mass in mouse model of type 2 diabetes: evidence for role of islet amyloid formation rather than direct action of amyloid. Diabetes 52:2304-2314, 2003
7. **Orci L., J.A. Vassalli, A. Perrelet:** The insulin factory. Sci. AM. 259:85-94, 1988
8. **Ionescu-Tîrgoviște C, Guja C, Ioacă S, Vlădică M.:** Plasma proinsulin could be a marker of  $\beta$  cell dysfunction in both type 2 and type 1 diabetes, Diabetic Med. 23, (Suppl.4): 66-67, 2006
9. **Ionescu-Tîrgoviste C., C. Guja, Vlădică M., S. Ioacă, Bojin A., Filip I.** Proinsulin levels are significantly increased both in type 1 and type 2 diabetes compared with normal subjects; Diabetes 55, Suppl. 1, A573, 2006
10. **Ionescu-Tîrgoviște C., Vlădică M., Margina D., Danculescu R, Radulian G., Ioacă S., Cheta D.,** Inflammatory and hormonal inflammatory and hormonal adipocytokines as markers of endothelial dysfunction; Diabetes 55, Suppl.1, A597, 2006
11. **Ionescu-Tîrgoviște C, Guja C, Ioacă S, Vlădică M.** Plasma proinsulin could be a marker of  $\beta$ -cell dysfunction in both type 2 and type 1 diabetes. Poster la The 19th World Diabetes Congress (IDF Congress), Cape Town, South Africa, 3-7 Decembrie 2006. Diabetic Medicine 23(Suppl. 4):66-67, 2006.
12. **Ionescu-Tîrgoviște C., Ioacă S., Guja C.:** A pathophysiological approach to metabolic syndrome using factor analysis in an adult Romanian population. Arch.Physiol.Biochem. 112: 182-188, 2006.
13. **Ionescu-Tîrgoviște C., A.Mihai., C.Guja, M. Vlădică, S. Ioacă, R. Lichiardopol, E. Apetrei:** Differences in prevalence of metabolic syndrome in subjects with impaired fasting glucose Diabetes & Vascular Disease Research 4 (Suppl.1) S108, 2007
14. **Ionescu-Tîrgoviște C., C. Guja, M. Vlădică, S. Ioacă, A. Mihai, L. Florea, A. Bulgar, L. Guja** The relationship between proinsulin level and body mass index in various diabetic phenotypes, including obesity and the metabolic syndrome. Diabetes & Vascular Disease Research 4 (Suppl.1) S 109, 2007
15. **Ionescu-Tîrgoviste C., Guja C., Moța M., Ioacă S., Vlădică M., Pascu M., Mihai A.:** Plasma proinsulin levels in long standing diabetes: marker for a dysfunctional  $\beta$  cell regeneration? [Abstract]. Diabetes 56 (Suppl.1) A423, 2007
16. **Ionescu-Tîrgoviște C.** For a new paradigm of diabetes. Rom J Intern Med 45:3-15, 2007
17. **Ionescu-Tîrgoviște C., Guja C.** Proinsulin, proamylin and the  $\beta$  cell endoplasmic reticulum: The key for the pathogenesis of different diabetes phenotypes. Proc. Rom. Acad., Series B, 2, p. 113-139, 2007
18. **Ionescu-Tîrgoviște C, Guja C.** The various phenotypes of diabetes and the endoplasmic reticulum of the  $\beta$  cell. Rom J Intern Med. 45(3):287-91; 2007
19. **Despa F., Ionescu-Tîrgoviște C.** Accumulation of toxic residues in  $\beta$ -cells can impair conversion of proinsulin to insulin via molecular crowding effects. Proc. Rom. Acad. Series B, 3:225-233, 2007
20. **Ionescu-Tîrgoviște, C.:** Prolegomenon to the European Constitution Book of diabetes mellitus. Proc. Rom. Acad., Series B, 3, p. 179-213, 2008
21. **Ionescu-Tîrgoviște C., Guja C., Guja L., Pencea C.:** Where could be hidden the primary cause of diabetes? 3rd Macedonian Congress on Endocrinology, Diabetes & Metabolic Disorders with International Participation, Ohrid, Macedonia, Abstract Book pag 29, 2008
22. **Ionescu-Tîrgoviște C.** Proinsulin as the possible key in the pathogenesis of type 1 diabetes. Acta Endocrinologica (Buc), 5, 233-249, 2009
23. **Ionescu-Tîrgoviște C., Guja C., Cristescu V., Gutu D.:** The role of the pancreatic amyloid in the pathogenesis of type 2 diabetes. Proc. Rom. Acad., Series B, p. 21-34, 2010
24. **Ionescu-Tîrgoviște C.** Insulin resistance - What is myth and what is reality? Acta Endocrinologica (Buc) 2011, 7 (1): 123-146.
25. **Rorsman P., Renstrom E.:** Insulin granule dynamics in pancreatic  $\beta$  cells. Diabetologia 46:1029-1045, 2003

26. **Kronborg J., Johnson S.H., Njølstad I. et al.:** Proinsulin: insulin and insulin: glucose ratios as predictors of carotid plaque growth: a population based 7 year follow-up of the Tromsø Study. *Diabetologia* 50:1607-1614, 2007
27. **Vasilescu R., Ifrim S., Ionescu-Tîrgoviște C.** Leptin to adiponectin ratio is an independent predictor of common carotid artery intima-media thickness in obese subjects. *Proc. Rom. Acad., Series B*, 12:209-217, 2010.
28. **Maedler K., Schumann D., Schulthess F., Oberholzer J., Bosco D., Berney T., Donath M.Y.:** Aging correlates with decreased  $\beta$ -cell proliferative capacity and enhanced sensitivity to apoptosis. A potential role for Fas and pancreatic duodenal home box- 1. *Diabetes* 55, 2455-2462, 2006
29. **Cnop M., Hughes S.J., Igoillo-Esteve M., Hoppa M.B., Sayyed F., Van de Laar L., Gunter J.H., Koning E.J.P., Walls G.V., Gray D.W.G., Johnson P.R.V., Hansen B.C., Morris J.F., Pipeleers-Marichal M., Cnop I., Clark A.:** The long lifespan and low turnover of human islet beta cells estimated by mathematical modeling of lipofuscin accumulation. *Diabetologia* 53, 321-330, 2010
30. **Pulimeno P, Mannic T, Sage D et al.** Autonomous and self-sustained circadian oscillators displayed in human islet cells. *Diabetologia* 56:497-507, 2013
31. **Michael D.J., Ritzel R.A., Haataja L., Chow R.H.:** Pancreatic  $\beta$  cell secrete insulin in fast and slow release forms. *Diabetes* 55:600-607, 2006
32. **Michael D.J., Xiong W., Geng X., Drain P., Chow R.H.:** Human insulin vesicle dynamics during pulsatile secretion. *Diabetes* 56:1277-1288, 2007
33. **Paolisso G., Tataranni P.A., Foley J.E. et al.:** A high concentration of fasting plasma non-esterified fatty acids is a risk factor for the development of NIDDM. *Diabetologia* 38: 1213-1217, 1995
34. **Wang L, McLeod HL, Weinshilboum RM.** Genomics and drug response. *N Engl J Med* 364:1144-1153, 2011.
35. **Bloss CS, Schork NJ, Topol EJ.** Effect of direct-to-consumer genomewide profiling to assess disease risk. *N Engl J Med* 364:524-534, 2011.
36. **Evans JP, Meslin EM, Marteau TM, Caulfield T.** Genomics. Deflating the genomic bubble. *Science* 2011;331:861-862
37. **Grant RW, O'Brien KE, Waxler JL et al.** Personalized genetic risk counseling to motivate diabetes prevention: a randomized trial. *Diabetes Care* 36:13-19, 2013
38. **Ionescu-Tîrgoviște C., Cheța D., Elena Popa, Mincu I.** Le rôle de l'obésité dans l'étiopathogénie du diabète sucré. *Medicine et Nutrition*, 12: 97-106, 1976.
39. **Tuomilehto J., Lindström J., Eriksson J.G., et al. B.** Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N. Engl. J. Med.* 334:1343-1350, 2001
40. **Loos R.J.F., Franks P.W., Francis R.W., Barroso I., Gribble F.M., Savage D.B., Ong K.K., O'Rahilly S., Wareham N.J.:** TCF7L2 polymorphisms modulate proinsulin levels and  $\beta$ -cell function in a British European population. *Diabetes* 56 (Suppl.1) 1943-1947, 2007
41. **Strawbridge RJ, Dupuis J, Prokopenko I, et al.** Genome-wide association identifies nine common variants associated with fasting proinsulin levels and provides new insights into the pathophysiology of type 2 diabetes. *Diabetes*. ;60:2624-342011.
42. **Florez J.C., Jablonski K.A, McAteer J., Sandhu M.S., Wareham N.J., Barroso I., Franks P.W., Altshuler D., Knowler W.C.,** for the Diabetes Prevention Program Research Group : Testing of diabetes-associated WFS1 polymorphisms in the Diabetes Prevention Program. *Diabetologia* 51:451-457, 2008
43. **Florez J.C.** Newly identified loci highlight beta cell destruction as a key cause of type 2 diabetes: where are the insulin resistance genes?. *Diabetologia* 2008; 51:1100-1110
44. **McCarthy M.I., Zeggini E.:** Genome-wide association studies in type 2 diabetes. *Curr Diab Rep* 9: 164-171, 2009
45. **McCarthy M.** Genomics, type 2 diabetes, and obesity. *N Engl J Med.* 363:2339-2350, 2010.
46. **Reaven G.M.:** Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37:1595-1607, 1988
47. **Ionescu-Tîrgoviște C.:** Bariatric surgery: three remarks and an addendum as the beginning of 2010. (Editorial) *Rom J Diab Nutr & Met Dis* 17: 1-5, 2010