



UMF Craiova Facultatea de Medicină
Disciplina: Diabet Nutriție Boli Metabolice
Tel/Fax 0251 502 418 Email:
diabetes@umfcv.ro



Programul:	IDEI
Tipul proiectului:	Proiecte de cercetare exploratorie
Cod proiect:	ID_711

NR CONTRACT: 234/01.10.2007

Director grant: Conf. Univ. Dr. Mota Maria

Sinteza lucrării

„NOI PERSPECTIVE IN STUDIUL SISTEMULUI ENDOCANABINOID-POLIMORFISMELE GENEI CNR1 SI FENOTIPUL METABOLIC”

a) Stadiul atins în derularea grantului în raport cu obiectivele prevăzute inițial:

In faza finala a anului 2007 au fost atinse obiectivele propuse.

In cadrul proiectului, initial, s-a stabilit modul de derulare si planul de lucru.

S-au facut demersurile necesare in vederea pregatirii fazei de cercetare prin achizitionarea infrastructurii, a materialelor si obiectelor de inventar utile desfasurarii grantului.

- S-a initiat includerea subiectilor in studiu pe baza criteriilor de includere (virsta>35 ani, subiecti cauczieni, neinruditi, consimtamant semnat de subiecti) si criteriilor de excludere (diagnostic de DZ tip 1, afectiuni sau medicamente care interfera cu insulinosecretia, IR si nivelul lipedelor, sarcina si lactatie).

- Pana in prezent au fost selectati pe baza criteriilor de includere/excludere, 18 pacienti diagnosticati cu diabet zaharat tip 2, fara tratament antidiabetic, echilibrati numai prin masuri de optimizare a stilului de viata si 2 subiecti nediagnosticati cu diabet.

- Subiectii au semnat Consimtamantul informat anterior intrarii in studiu, in deplina cunostinta de cauza, dupa ce au fost informati asupra tuturor aspectelor relevante in luarea deciziei. Studiul este condus in concordanta cu principiile etice, care isi au originea in Declaratia de la Helsinki, si sunt in concordanta cu GCP si reglementarile nationale si internationale in vigoare, respectandu-se dreptul la integritate, confidentialitate, optiunea retragerii oricand din studiu a subiectului. Desfasurarea tuturor activitatilor din proiectului de cercetare s-a realizat cu respectarea normelor legale prevazute în Legea 206/2004 privind buna conduita în cercetarea stiintifica, dezvoltarea tehnologica si inovare. Toate drepturile asupra documentelor, datelor obtinute precum si asupra rezultatelor si rapoartelor studiului sunt si ramin proprietatea colectivului care va proteja toate datele de orice utilizare, multiplicare, dezvaluire, pierdere sau deteriorare neautorizata pina la comunicarea si respectiv publicarea in reviste de specialitate a rezultatelor finale.
- S-a completat fisa pacientilor studiatii cu date personale: antecedente personale patologice (vechimea diabetului, prezenta/ absenta complicatiilor cronice macrovasculare si microvasculare ale diabetului, greutatea maxima atinsa pana in prezent, prezenta dislipidemiei, analiza respectarii masurilor de optimizare a stilului de viata la persoanele diagnosticate cu diabet zaharat tip 2) si antecedente heredocolaterale (prezenta diabetului, obezitatii, dislipidemiei la rudele de gradul I ale subiectiilor inclusi in studiu).
- Au fost inregistrati parametrii antropometrici: greutate, inaltime, circumferinta taliei si soldului. Pe baza acestor parametrii s-au calculat: indicele talie / sold si indicele masei corpului (IMC).
- In functie de indicii calculati si valoarea circumferintei abdominale subiectii au fost considerati: normoponderali ($IMC 18.5-24.9 \text{ Kg/m}^2$), supraponderali ($IMC 25-29.9 \text{ Kg/m}^2$), obezi ($IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$) si subiecti cu obezitate abdominala (Circumferinta abdominala $\geq 80 \text{ cm}$ la femei si $\geq 94 \text{ cm}$ la barbati, Indicele abdomino-fesier >0.95 la barbati si >0.8 la femei).
- La toti subiectii inclusi in studiu s-au prelevat probe de sange dupa un post alimentar de 12 ore, in vederea dozarii glicemiei bazale. Infrastructura de cercetare existenta a fost adecvata obiectivelor acestei faze a proiectului.
- La subiectii fara diagnostic de diabet s-a efectuat test de toleranta orala la glucoza cu 75 g glucoza pulvis. S-au prelevat probe de sange dupa un post alimentar de 12 ore in vederea determinarii glicemiei bazale. Ulterior s-au administrat 75 g glucoza pulvis dizolvata in 200 ml apa. S-au prelevat probe de sange la 1 ora si la 2 ore dupa administrarea glucozei in vederea determinarii glicemiei la 1 ora si la 2 ore dupa ingestia glucozei.

- Pe baza testului de toleranță orală la glucoză s-a urmărit excluderea tulburărilor metabolismului glucidic la subiecții nediznaști anterior cu diabet zaharat.

- În vederea desfășurării fazelor următoare ale proiectului o parte din probele de sânge prelevate au fost stocate în vederea determinării nivelurilor plasmatice ale: colesterolului total, trigliceridelor, HDL colesterol, adiponektinei, leptinei și insulinei și în vederea identificării la populația studiată a cinci dintre polimorfismele cunoscute ale genei CNR1- 1359 G>A, 23866A>C, 10908G>A, 3813 A>G, 4894 A>G cit și a identificării de noi polimorfisme ale genei CNR1 prin scanarea unei regiuni de 1000 bp din secvența genei CNR1.

Nu s-au înregistrat accidente și incidente pe parcursul desfășurării studiului iar probele au fost prelevate, transportate și stocate în concordanță cu prevederile protocoalelor tehnice specifice fiecărei determinări.

b) Valoarea și nivelul științific al rezultatelor obținute până în stadiul respectiv:

Prezentul proiect abordează o problemă încadrată în domeniile biologiei moleculare și celulare și a genomicii, oferind noi perspective în cunoașterea rolului sistemului endocannabinoid (**SEC**) în fiziopatogenia obezității, insulinorezistenței (**IR**), insulinosecreției, diabetului zaharat tip 2 (**DZ tip 2**) și dislipidemiei (**DLP**) cu accent asupra implicării polimorfismului CNR1 în modularea rolului SEC în patogenia fenotipului metabolic. Tema abordată se constituie într-un proiect de cercetare fundamentală, fiind un model inovativ de integrare a datelor clinice, biologice și genetice cu scopul identificării corelației polimorfismelor genei CNR1, gena ce codifică receptorul cannabinoid CB1, cu fenotipul metabolic.

În contextul actual al morbidității pe plan mondial obezitatea și IR sunt într-o extindere exponențială, din care derivă atât aspectele clinice și terapeutice, cât și cele socio-economice. Importanța clinică a obezității și IR nu trebuie subevaluată, având în vedere mortalitatea și morbiditatea asociată multiplelor afecțiuni ce constituie consecințe ale acestora. În acest sens există date epidemiologice ce consideră DZ tip 2, DLP, ateroscleroza consecințe ale IR. Asocierea obezității, DLP, IR și DZ tip 2 constituie o condiție poligenică, multifactorială în care fenotipul este rezultatul interacțiunii dintre factori de mediu și predispoziția genetică. Evidențierea corelației polimorfismelor CNR1 cu fenotipul metabolic are o importanță deosebită deoarece polimorfismele CNR1 pot constitui noi markeri ai fenotipului metabolic, putând fi astfel utilizați în screening-ul

persoanelor cu risc crescut. Se va putea, astfel, preveni apariția obezității, IR, DLP, DZ tip 2 și a complicațiilor acestuia scăzând astfel considerabil costurile.

În funcție de parametrii antropometrici și de rezultatul testului de toleranță orală la glucoză s-au structurat loturile de studiu LOT1: 7 subiecți diagnosticați cu DZ tip 2, normoponderali ($IMC < 25 \text{ Kg/m}^2$), fără tratament antidiabetic, echilibrați numai prin măsuri de optimizare a stilului de viață. LOT2: 11 pacienți diagnosticați cu DZ tip 2, obezi ($IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$), fără tratament antidiabetic, echilibrați numai prin măsuri de optimizare a stilului de viață. LOT3: 1 subiect fără tulburări ale metabolismului glucidic, obez ($IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$). LOT4: Lotul control constituit dintr-un subiect fără tulburări ale metabolismului glucidic, normoponderal ($IMC < 25 \text{ Kg/m}^2$).

Datele preliminare obținute în această fază a grantului sugerează existența predominantă a obezității (evaluate cu ajutorul parametrilor antropometrici) la pacienții diagnosticați cu diabet zaharat tip 2, fără tratament antidiabetic, echilibrați numai prin măsuri de optimizare a stilului de viață și a normoponderiei la subiecții nediagnosticați cu diabet.

Tinerii cercetători din echipa de cercetare au participat la selectarea pacienților, la culegerea datelor anamnestice, la măsurarea și înregistrarea parametrilor antropometrici, la evaluarea și monitorizarea clinică, la efectuarea curentă a testelor genetice, la prelucrarea materialului biopsic. Au participat activ la colectarea și stocarea computerizată a parametrilor clinici și paraclinici în bazele de date.

c) Măsura în care rezultatele au fost difuzate (articole, cărți, comunicări) alte constatări:

Au fost publicate și susținute lucrări la manifestări științifice de profil ce au abordat teme din cadrul grantului:

- Riscul cardiometabolic și Sistemul endocannabinoid. Maria Mota, S. Popa, E. Mota. Medicina Internă, Vol VI, Al VII-Congres Național de Medicina Internă

- *Dinamica greutății corporale – corelații cu apariția diabetului zaharat.* Maria Mota, D. Braicu, S. Gârgăvu, D. Popescu, Spitalul Clinic Județean de Urgență Craiova. Acta Diabetologica Română, Vol 33:1-352, 2007, Calimănești Căciulata, Volum de rezumate. ISSN:1220- 5818.

- *Impact of obesity and omega-3 polyunsaturated fatty acids on fibrogenesis and responsiveness to antiviral therapy in chronic hepatitis C.* Simona Georgiana Popa, Maria Moța.- susținută la Al IX-lea Simpozion Național cu participare internațională al Fundației pentru

Alimentatie Sanatoasa, Sinaia 26-27 10 2007. Aceasta lucrare a fost nominalizată și a obtinut premiul Concursului FPAS- 2007 pentru Tinerii Cercetători, oferit de Fundatia pentru Alimentatie Sanatoasa.

- Articolul (review): *Impactul insulinoresistentei asupra fibrozei si raspunsului la terapia cu interferon in hepatita cronica C*. Moța Maria, Popa Simona, NM Panduru, E Mota este in curs de evaluare la Journal of Cellular and Molecular Medicine, revista cotata ISI (ID manuscris: JCMM-04-2007-032).

In cadrul acestei faze a grantului toți membri echipei, în mod special **tinerii cercetatori au fost angrenati permanent in activitatea de documentare** in concordanta cu tematica grantului, in elaborarea rapoartelor de etapa si a lucrarilor stiintifice.

d) Modul de utilizare a fondurilor până în stadiul respectiv:

Fondurile alocate pe anul 2007 pentru cercetare in cadrul acestui grant, au fost utilizate pentru achzitionarea de materiale consumabile, reactivi, echipamente de infrastructura, echipamente necesare gestionarii bazei de date, prelucrare fisiere si acces internet (notebook, PDA, imprimanta laser) si pentru salarizarea membrilor echipei de cercetare implicati in aceasta etapa a grantului.

Nu s-a putut efectua stagiul de documentare -cercetare datorita anularii deplasarii unui membru al echipei de cercetare la un curs in concordanta cu temetica grantului. Mentionez ca suma de la capitolul mobilitati a fost transferata la capitolul logistica si folosita pentru achizitionarea de materiale consumabile (kituri, reactivi) si echipamente birotica, software