

Universitatea de Medicină și Farmacie “Iuliu Hațieganu” Cluj Napoca

TEZĂ DE DOCTORAT

MODIFICĂRI ALE PROPRIETĂȚILOR FIZICE ALE TEGUMENTULUI LA PACIENȚII CU DIABET ZAHARAT

REZUMAT

Conducător științific
Profesor Doctor Alexandru Tătaru

Doctorand
Anca-Elena Crăciun

CUPRINS

INTRODUCERE	17
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	21
1. Introducere	22
2. Anatomia și fiziologia tegumentului	28
2.1. Epidermul	31
2.2. Dermul	31
2.3. Hipodermul	32
3. Funcțiile tegumentului	33
3.1. Funcția de barieră împotriva pierderii de apă	34
3.2. Protecția împotriva injuriilor mecanice, termice și a factorilor nocivi din mediu	34
3.3. Funcția de termoreglare	35
3.4. Rolul imunologic	35
3.5. Funcția de neuroreceptor	36
3.6. Rol metabolic	36
3.7. Alte funcții	31
4. Proprietățile fizice ale tegumentului: grad de hidratare, pierdere transepidermică de apă, sebumetria și elasticitatea cutanată	36
4.1. Gradul de hidratare cutanată a SC	36
4.2. Pierderea transepidermică de apă (TEWL)	37
4.3. Sebumetria cutanată	39
4.4. Elasticitatea cutanată	39
5. Influența diabetului zaharat asupra tegumentului	40
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	
1. Ipoteza de lucru/obiective	47
2. Metodologie generală	48
2.1. Tipurile studiilor	48
2.2. Subiecții	48
2.3. Participarea la studiu	48
2.4. Softul utilizat pentru analiza statistică și definirea planului de analiză statistică	49

3. Studiul1 – Modificări ale proprietăților fizice ale tegumentului la pacienții cu diabet zaharat	50
3.1. Introducere	50
3.2. Ipoteza de lucru/obiective	50
3.3. Material și metodă	50
3.3.1. Subiecții	50
3.3.2. Criterii de includere	50
3.3.3. Criterii de excludere	51
3.3.4. Descrierea mijloacelor tehnice de investigare	51
3.3.4.1. Corneometer CM 825	52
3.3.4.2. Sebumeter SM 815	53
3.3.4.3. Tewameter TM 300	53
3.3.4.4. Cutometer MPA 580	54
3.3.5. Regiunile anatomice unde s-au realizat determinările	54
3.4. Rezultate	55
3.4.1. Caracteristicile lotului de studiu	55
3.4.1.1. Vârsta	55
3.4.1.2. Sexul	55
3.4.1.3. Indicii antropometrici	55
3.4.1.4. Tipul de diabet	56
3.4.1.5. Farmacoterapia diabetului	56
3.4.1.6. Prezența polineuropatiei diabetice	57
3.4.2. Hidratarea SC	57
3.4.2.1. Hidratarea SC la diabetici vs. martori	57
3.4.2.2. Hidratarea SC la diabetici, în funcție de farmacoterapia diabetului	58
3.4.2.3. Hidratarea SC la diabetici, în funcție de tipul diabetului	58
3.4.2.4. Hidratarea SC la diabetici, în funcție de prezența polineuropatiei diabetice	58
3.4.2.5. Hidratarea SC la diabetici, în funcție de controlul glicemic pe termen mediu	60
3.4.2.6. Hidratarea SC în funcție de vârstă	60
3.4.3. Sebumetria cutanată	61
3.4.3.1. Sebumetria la diabetici vs. martori	61
3.4.3.2. Sebumetria la diabetici, în funcție de farmacoterapia diabetului	61
3.4.3.3. Sebumetria la diabetici, în funcție de tipul diabetului	62
3.4.3.4. Sebumetria la diabetici, în funcție de prezența polineuropatiei diabetice	63
3.4.3.5. Sebumetria la diabetici, în funcție de controlul glicemic pe termen mediu	64
3.4.3.6. Sebumetria în funcție de vârstă	65
3.4.4. Pierderea transepidermică de apă (TEWL)	65
3.4.4.1. TEWL la diabetici vs. martori	65
3.4.4.2. TEWL la diabetici, în funcție de farmacoterapia diabetului	65
3.4.4.3. TEWL la diabetici, în funcție de tipul diabetului	65
3.4.4.4. TEWL la diabetici, în funcție de prezența polineuropatiei diabetice	66
3.4.4.5. TEWL la diabetici, în funcție de controlul glicemic pe termen mediu	66
3.4.4.6. TEWL în funcție de vârstă	66

3.4.5. Elasticitatea cutanată	67
3.4.5.1. Elasticitatea la diabetici vs. martori	67
3.4.5.2. Elasticitatea la diabetici, în funcție de farmacoterapia diabetului	67
3.4.5.3. Elasticitatea la diabetici, în funcție de tipul diabetului	68
3.4.5.4. Elasticitatea la diabetici, în funcție de prezența polineuropatiei diabetice	69
3.4.5.5. Elasticitatea la diabetici, în funcție de controlul glicemic pe termen mediu	69
3.4.5.6. Elasticitatea în funcție de vârstă	70
3.5. Discuții	70
3.6. Concluzii	73
4. Studiul 2 – Corelații și predictorii ai gradului de hidratare cutanată, ai pierderii transepidermice de apă, ai sebumetriei și elasticității cutanate	75
4.1. Introducere	75
4.2. Ipoteza de lucru/obiective	75
4.3. Material și metodă	75
4.3.1. Subiecții	75
4.3.2. Criteriile de includere și de excludere	75
4.3.3. Descrierea mijloacelor tehnice de investigare	76
4.3.4. Regiunile anatomice unde s-au realizat determinările	76
4.4. Rezultate	76
4.4.1. Caracteristicile lotului de studiu	76
4.4.2. Corelații și predictorii ai gradului de hidratare a SC	77
4.4.2.1. Corelații ale gradului de hidratare a SC în lotul de subiecți fără diabet	77
4.4.2.2. Corelații ale gradului de hidratare a SC în lotul de subiecți cu diabet	78
4.4.2.3. Corelații ale gradului de hidratare a SC în lotul de subiecți cu diabet tip 1	79
4.4.2.4. Corelații ale gradului de hidratare a SC în lotul de subiecți cu diabet tip 2	79
4.4.2.5. Predictorii ai gradului de hidratare a SC	80
4.4.3. Corelații și predictorii ai sebumetriei cutanate	81
4.4.3.1. Corelații ale sebumetriei cutanate în lotul de subiecți fără diabet	81
4.4.3.2. Corelații ale sebumetriei cutanate în lotul de subiecți cu diabet	82
4.4.3.3. Corelații ale sebumetriei cutanate în lotul de subiecți cu diabet tip 1	82
4.4.3.4. Corelații ale sebumetriei cutanate în lotul de subiecți cu diabet tip 2	83
4.4.3.5. Predictorii ai sebumetriei cutanate	83
4.4.4. Corelații și predictorii ai pierderii transepidermice de apă (TEWL)	85
4.4.4.1. Corelații ale TEWL în lotul de subiecți fără diabet	85
4.4.4.2. Corelații ale TEWL în lotul de subiecți cu diabet	85
4.4.4.3. Corelații ale TEWL în lotul de subiecți cu diabet tip 1	85
4.4.4.4. Corelații ale TEWL în lotul de subiecți cu diabet tip 2	85
4.4.4.5. Predictorii ai TEWL	86
4.4.5. Corelații și predictorii ai elasticității cutanate	87
4.4.5.1. Corelații ale elasticității cutanate în lotul de subiecți fără diabet	87
4.4.5.2. Corelații ale elasticității cutanate în lotul de subiecți cu diabet	87
4.4.5.3. Corelații ale elasticității cutanate în lotul de subiecți cu diabet tip 1	88
4.4.5.4. Corelații ale elasticității cutanate în lotul de subiecți cu diabet tip 2	88
4.4.5.5. Predictorii ai elasticității cutanate	89

4.5. Discuții	90
4.6. Concluzii	94
5. Studiul 3 - Efectul diabetului zaharat asupra tegumentului la șobolan – studiu experimental	96
5.1. Introducere	96
5.2. Ipoteza de lucru/obiective	96
5.3. Material și metodă	97
5.4. Rezultate	98
5.4.1. Evaluarea clinică și biologică	98
5.4.1.1. Greutatea	98
5.4.1.2. Glicemia	99
5.4.1.3. Diureza	100
5.4.2. Evaluarea histologică tegumentului	100
5.4.2.1. Histologie	100
5.4.2.2. Histometrie	103
5.5. Discuții	103
5.6. Concluzii	104
7. Discuții	106
7. Concluzii generale	110
8. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	111
REFERINȚE	113
ANEXE	121

Cuvinte cheie: diabet zaharat, hidratare cutanată, sebumetrie, elasticitate cutanată, pierdere transepidermică de apă (TEWL)

REZUMAT

Introducere

Tegumentul este un organ dinamic, extrem de complex, care se maturează și îmbătrânește diferențiat, în funcție de factori multipli, printre care vârsta, sexul, expunerea la factorii din mediul extern, stilul de viață și bolile asociate.

Diabetul zaharat este caracterizat prin afectarea producerii sau a mecanismului de acțiune ale insulinei, trăsătura metabolică specifică fiind creșterea glucozei plasmatice, ceea ce duce în timp la complicații cronice, care implică mai multe țesuturi. Mecanismul exact prin care diabetul cauzează afectare dermatologică nu este cunoscut. De obicei, se presupune că cele mai multe complicații induse de diabetul zaharat sunt datorate hiperglicemiei asociate cu această boală. Cu toate acestea, statutul de diabet zaharat include, în plus față de hiperglicemie, afectarea acțiunii/secreției insulinei. A fost demonstrat în studii anterioare că insulina este un factor de creștere esențial pentru keratinocite *in vitro* și are o influență substanțială asupra proliferării și a migrației acestora. De asemenea, s-a demonstrat că insulina reglează diferențierea keratinocitelor, care exprimă receptori de insulină și sistem intracelular de transport.

Există puține studii în literatură axate pe determinarea proprietăților fizice ale tegumentului (grad de hidratare, pierdere transepidermică de apă, elasticitate și sebumetrie) la pacienții cu diabet zaharat, dispozitivele pentru măsurarea acestora fiind relativ recent dezvoltate. Scopul acestei lucrări este de a realiza o caracterizare completă și bine structurată a proprietăților fizice ale tegumentului la pacienții cu diabet zaharat. Aceste măsurători aduc date

despre gradul de hidratare al stratului cornos (SC), funcția de barieră (măsurată prin valoarea TEWL - transepidermal water loss), elasticitate, precum și sebumetrie.

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Unde sunt prezentat succint date privind anatomia, fiziologia și funcțiile tegumentului prin prisma datelor din literatură. Se pune accent pe descrierea proprietăților fizice ale tegumentului: grad de hidratare a stratului cornos, pierdere transepidermică de apă, sebumetrie și elasticitate cutanată, precum și influența diabetului zaharat asupra acestor proprietăți.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Obiectivul principal a fost compararea proprietăților fizice cutanate ale pacienților diabetici, cu cele ale subiecților fără diabet, de aceeași vârstă și sex. Am efectuat măsurători ale **gradului de hidratare a SC, funcției de barieră** (măsurată prin valoarea TEWL), **elasticității cutanate**, precum și ale **sebumetriei tegumentului**.

Obiectivele secundare ale acestei lucrări au fost:

- Determinarea impactului pe care îl are controlul glicemic asupra acestor proprietăți fizice cutanate (în funcție de valoarea HbA1c și a glicemiei bazale);
- Asocierea dintre modificările proprietăților fizice ale tegumentului și prezența anumitor complicații cronice ale diabetului zaharat (spre exemplu gradul de hidratare și neuropatia diabetică);
- Evaluarea impactului insulinoterapiei asupra proprietăților fizice ale tegumentului;
- Corelații între proprietățile fizice cutanate și alte variabile: sexul, vârsta, indicele de masă corporală, tipul de diabet, tratamentul antihyperglicemiant, precum și predictorii proprietăților fizice cutanate;
- Influența vârstei asupra proprietăților fizice cutanate;
- Modificări histologice ale tegumentului apărute în diabetul zaharat.

Lucrarea se compune din 3 studii: 2 studii clinice, observaționale, transversale, primul de cohortă, al doilea caz-martor, precum și un studiu experimental, realizat cu șobolani rasa Wistar.

Studiul 1: Modificări ale proprietăților fizice cutanate la pacienții cu diabet zaharat

Studiul 2: Corelații și predictorii ai gradului de hidratare cutanată, ai pierderii transepidermice de apă, ai sebumetriei și ai elasticității cutanate

Studiul 3: Efectul diabetului zaharat asupra tegumentului la șobolan – studiu experimental

Studiul 1: Modificări ale proprietăților fizice cutanate la pacienții cu diabet zaharat

Obiectivul principal a fost compararea proprietăților fizice cutanate (grad de hidratare al stratului cornos, sebumetrie, elasticitate, pierdere transepidermică de apă) ale pacienților diabetici, cu cele ale subiecților fără diabet, de aceeași vârstă și sex.

Obiectivele secundare ale acestui studiu au fost: determinarea impactului pe care îl are controlul glicemic asupra acestor proprietăți fizice cutanate (în funcție de valoarea HbA1c); asocierea dintre modificările proprietăților fizice ale tegumentului și prezența anumitor complicații cronice ale diabetului zaharat (spre exemplu gradul de hidratare și neuropatia diabetică); evaluarea impactului insulinoterapiei asupra proprietăților fizice ale tegumentului; influența vârstei asupra proprietăților fizice cutanate.

Material și metodă

La studiu au participat 44 de pacienți diagnosticați cu diabet zaharat tip1 sau tip2, precum și 41 de subiecți fără diabet, ajustați pentru vârstă și sex. Pentru efectuarea măsurătorilor cutometrice s-a utilizat aparatul Multi Probe Adapter Systems MPA® (produs al companiei Courage-Khazaka, Germania), cu ajutorul a 4 sonde: Corneometer® CM 825 – pentru determinarea gradului de hidratare a SC; Tewameter® TM 300 – pentru determinarea pierderii transepidermice de apă; Sebumeter® SM 815 – pentru determinarea cantității de sebum; Cutometer® MPA 580 – pentru determinarea elasticității tegumentului. Dispozitivul este conectat la un PC, fiecare sondă având programul său de afișare a datelor, compatibil Windows. Măsurarea gradului de hidratare a SC s-a efectuat în 3 puncte: fața volară antebraț stâng; fața antero-laterală a coapsei stângi și față dorsală a piciorului stâng. Măsurarea sebumului cutanat s-a realizat în 2 puncte: fața volară a antebrațului stâng și gamba stângă. Măsurarea pierderii transepidermice de apă s-a efectuat într-un singur punct, la nivelul antebrațului stâng. Măsurarea elasticității cutanate s-a efectuat în 4 puncte: fața dorsală a mâinii drepte; fața volară a antebrațului drept; fața antero-laterală a coapsei drepte și unghiul ochiului drept.

Rezultate

La acest studiu transversal, caz-martor, au participat 44 de pacienți cu diabet zaharat și 41 de martori ajustați pentru vârstă și sex ($53,07 \pm 12,13$ vs. $52,24 \pm 2,97$ ani, $p=0,76$). Lotul de studiu a fost format în majoritate din femei (68,18% vs. 31,82), la fel ca și lotul de control (68,3% vs. 31,7%). Majoritatea pacienților din grupul de control au fost supraponderali sau obezi (71%), cu toate acestea în grupul de diabetici tip 2 IMC a fost semnificativ mai mare, 86,8% dintre ei fiind supraponderali sau obezi. În lotul de studiu aproximativ 3/4 dintre cazuri au fost de diabet zaharat tip 2 (73,2%), iar aproximativ un sfert au fost cazuri de diabet tip 1 (26,8%). Cu toate acestea, 75,6% dintre pacienți au fost insulinotratați. Aproximativ jumătate dintre pacienții din lotul de studiu au avut diabet zaharat complicat cu polineuropatie diabetică. În ceea ce privește **gradul de hidratare a SC**, am obținut semnificație statistică pentru scăderea hidratării SC la unele puncte de măsurare, în următoarele situații: a) la diabetici față de martori (la nivelul antebrațului $p=0,008$); b) la diabeticii insulinotratați față de diabeticii tratați cu antidiabetice orale (la nivelul coapsei $p=0,04$); c) la diabeticii cu PNP față de martori (la nivelul antebrațului $p=0,002$, iar la nivelul coapsei și piciorului $p=0,001$); d) la diabeticii cu PNP față de bolnavii fără PNP (la nivelul antebrațului $p=0,009$, la nivelul coapsei $p=0,001$, iar la picior $p=0,01$); e) la diabetici cu valoare HbA1c mai mare sau egală cu 6,5% față de martori ($p=0,002$ la nivelul mâinii și a picioarului și 0.001 la coapsă). Gradul hidratării cutanate a SC a fost semnificativ mai mic la diabeticii sub 50 ani vs. martorii de aceeași vârstă, fiind comparabil cu hidratarea SC a martorilor peste 50 ani. Nu a existat semnificație statistică în ceea ce privește gradul de hidratare a SC când am comparat diabeticii între ei, martorii cu diabeticii tratați cu ADO sau martorii cu diabeticii fără PNP. **Sebumetria cutanată** a fost semnificativ mai mică la unele puncte de măsurare, astfel: a) la diabeticii insulinotratați (atât tip 1 sau 2 de diabet) față de martori (la nivelul gambei $p=0,043$); b) la diabeticii tip 1 față de martori ($p=0,011$ la nivelul gambei); c) la diabeticii cu PNP față de martori ($p=0,046$ la nivelul antebrațului și 0,026 la nivelul gambei); d) diabeticii cu vârsta sub 50 ani au avut o valoare a sebumetriei semnificativ mai mică la nivelul gambei ($p=0,04$) față de martorii de aceeași vârstă. Nu a existat semnificație statistică în ceea ce privește sebumetria cutanată când am comparat lotul de martori cu lotul de diabetici în general, sau diabetici tip 2 (cu sau fără insulinoterapie), sau cei tratați cu ADO. Nu a fost semnificativ diferită nici la diabetici tratați cu ADO față de cei insulinotratați, sau între

pacienții cu tip1 sau 2 de diabet, cu sau fără PNP, sau între martori și diabetici, indiferent de controlul glicemic pe termen mediu. Sebumetria cutanată a diabeticilor cu vârsta sub 50 ani a fost comparabilă cu cea a martorilor peste 50 ani. **Pierderea transepidermică de apă (TEWL)** la nivelul antebrațului nu a prezentat semnificație statistică între loturi în nici o situație. **Elasticitatea cutanată** a fost semnificativ mai mică la martori față de diabeticii tip 1 la nivelul coapsei, $p=0,001$ (probabil datorită vârstei mai mici) și la diabeticii sub 50 ani față de martorii de aceeași vârstă ($p=0,001$ la nivelul antebrațului). Elasticitatea cutanată a diabeticilor cu vârsta peste 50 ani a fost comparabilă cu cea a martorilor peste 50 ani, dar diabeticii sub 50 ani au o elasticitatea cutanată semnificativ mai bună față de diabeticii peste 50 ani.

Concluzii

Diabetul afectează în special gradul de hidratare al SC și sebumetria cutanată, afectarea fiind mai severă în cazul asocierii cu PNP. TEWL nu este influențată de diabet, iar elasticitatea cutanată și sebumetria cutanată sunt reduse la diabeticii cu vârsta sub 50 ani față de martorii de aceeași vârstă. Scăderea gradului de hidratare a SC, fără modificarea TEWL, sunt modificări ale proprietăților fizice cutanate care apar odată cu înaintarea în vârstă, acestea fiind și modificările observate la diabetici vs. martori.

Studiul 2: Corelații și predictorii ai gradului de hidratare cutanată, ai pierderii transepidermice de apă, ai sebumetriei și ai elasticității cutanate

Obiectivul principal a fost să aflăm corelațiile și predictorii gradului de hidratare cutanată a SC, ai pierderii transepidermice de apă, sebumetriei și elasticității cutanate. În acest sens am desfășurat un studiu transversal, de cohortă.

Material și metodă

La studiu au participat 57 de pacienți diagnosticați cu diabet zaharat tip 1 sau tip 2, precum și 46 de subiecți fără diabet. Participarea a fost voluntară, înainte de a efectua orice procedură de studiu fiind semnat Formularul de Consimțământ Informat. Pentru efectuarea măsurătorilor cutometrice s-a utilizat aparatul Multi Probe Adapter Systems MPA® (produs al companiei Courage-Khazaka, Germania), cu ajutorul a 4 sonde: Corneometer® CM 825 – pentru determinarea gradului de hidratare cutanată; Tewameter® TM 300 – pentru determinarea pierderii transepidermice de apă; Sebumeter® SM 815 – pentru determinarea cantității de sebum; Cutometer® MPA 580 – pentru determinarea elasticității tegumentului. Dispozitivul este conectat la un PC, fiecare sondă având programul său de afișare a datelor, compatibil Windows. Măsurarea gradului de hidratare a stratului cornos s-a efectuat în 3 puncte: fața volară antebraț stâng; fața antero-laterală a coapsei stângi și fața dorsală a piciorului stâng. Măsurarea sebumului cutanat s-a realizat în 2 puncte: fața volară a antebrațului stâng și gamba stângă. Măsurarea pierderii transepidermice de apă s-a efectuat într-un singur punct, la nivelul antebrațului stâng. Măsurarea elasticității cutanate s-a efectuat în 4 puncte: fața dorsală a mâinii drepte; fața volară a antebrațului drept; fața antero-laterală a coapsei drepte și unghiul ochiului drept.

Rezultate

Polineuropatia diabetică a fost complicația cronică a diabetului asociată la 54,38% dintre diabeticii incluși în studiu, prezentă la 64,3% dintre diabeticii tip 1 și 51,16% dintre diabeticii tip2. **Gradul de hidratarea cutanată a SC** la diabetici s-a corelat semnificativ cu prezența PNP

($p < 0,001$). Dacă am analizat întreg lotul de participanți la studiu, înălțimea ($p = 0,027$ la nivelul antebrăului, $p < 0,001$ la nivelul mâinii și piciorului), greutatea ($p = 0,04$ la nivelul coapsei) și sexul par să se coreleze cu gradul de hidratare a SC la unele puncte de măsurare, iar femeile par să prezinte o scădere a conținutului de apă a SC, față de bărbați ($p = 0,003$ la nivelul antebrăului, $0,004$ la coapsă și $p < 0,001$ la picior). Prezența diabetului zaharat se asociază cu scăderea semnificativă a gradului de hidratare la nivelul antebrăului ($p = 0,005$), dar dacă se face corecția pentru prezența neuropatiei, se pare că această corelație dispăre. În schimb, polineuropatia diabetică rămâne asociată semnificativ cu scăderea gradului de hidratare cutanată la toate punctele de măsurare ($p < 0,001$). **Sebumetria cutanată** s-a corelat semnificativ în lotul de diabetici cu prezența PNP ($p = 0,018$ la nivelul gambei); femeile, cu sau fără diabet, au avut sebumetria semnificativ mai redusă decât bărbații, la ambele puncte de măsurare ($p < 0,05$). Dacă am analizat întreg lotul de participanți la studiu, înălțimea, greutatea și TEWL par să se coreleze semnificativ cu sebumetria cutanată. În ceea ce privește predictorii, la întreg lotul, dar și la lotul de diabetici, sebumetria se corelează cu sexul, bărbații având valori semnificativ crescute față de femei ($p < 0,05$). La nivelul gambei, sebumetria se asociază negativ cu prezența PNP, dar nu este influențată de diabet. Dacă se face ajustarea pentru vârstă și sex asocierile dispar, dar în cazul lotului de diabetici apare asociere cu tipul tratamentului, diabeticii insulinoțrați având o valoare a sebumetriei mai mică decât diabeticii tratați cu ADO ($p = 0,02$). **Pierderea transepidermică de apă (TEWL)** se corelează la pacienții cu diabet cu elasticitatea și sexul, bărbații având o pierdere transepidermică de apă mai mare decât femeile. Predictorul semnificativ statistic al unei pierderi transepidermice crescute de apă la nivelul antebrăului a fost sexul masculin ($p = 0,006$). **Elasticitatea cutanată** se corelează semnificativ statistic la pacienții diabetici cu vârsta ($p \leq 0,006$ la nivelul mâinii, antebrăului și coapsei), sebumetria ($p = 0,032$ la nivelul mâinii), TEWL ($p < 0,05$ la nivelul antebrăului), tipul de tratament ($p = 0,025$ la nivelul coapsei) sau tipul de diabet ($p < 0,03$ la nivelul coapsei și antebrăului). Predictorul semnificativ statistic al unei elasticități scăzute la toate punctele de măsurare (cu excepția unghiului ochiului) a fost înaintarea în vârstă ($p < 0,001$). Tipul 2 de diabet pare să fie predictor pentru elasticitate cutanată redusă la nivelul coapsei ($p < 0,001$).

Concluzii

Mai degrabă prezența PNP, decât diabetul în sine, pare să ducă la afectarea hidratării SC la pacienții diabetici. Sexul feminin, datorită constelației hormonale diferite, pare să aibă o producție redusă de sebum, ceea ce afectează gradul de hidratare a SC și TEWL mai mic. Scăderea elasticității tegumentului la nivelul coapsei se asociază cu tipul 2 de diabet.

Studiul 3: Efectul diabetului zaharat asupra tegumentului la șobolan – studiu experimental

Obiectivul principal a fost să vedem dacă diabetul zaharat indus cu STZ, după 10 săptămâni de evoluție, duce la afectarea structurii histologice și a histometriei tegumentului de șobolan.

Material și metodă

Pentru acest studiu am utilizat 35 șobolani adulți rasa Wistar. Diabetul zaharat a fost indus la o parte dintre șobolani prin administrarea unei singure injecții de STZ (dizolvat în ser fiziologic), într-o doză de 25 mg/kg corp. La 3 zile, respectiv o săptămână de la injectare, a fost măsurată glicemia capilară, cu ajutorul glucometrului, considerându-se că șobolanul este diabetic

la o glicemie peste 250 mg/dl. Pentru supraviețuire, șobolani diabetici au fost subinsulinizați - s-a administrat la interval de 2-3 zile insulină cu durată lungă de acțiune (Lantus, Sanofi-Aventis), în funcție de valoarea glicemiei matinale, astfel încât să nu survină cetoacidoza severă și decesul, dar să fie menținut statusul hiperglicemic. Au fost măsurate 26 glicemii pentru fiecare șobolan din lotul de studiu. Lotul martor a fost format din șobolani cărora nu li s-a administrat STZ. Pe durata studiului s-au asigurat hrană și apă *ad libitum*; s-a asigurat ritmul de somn-veghe (12h lumină și 12h întuneric); măsurarea diurezei s-a realizat cu ajutorul cuștilor metabolice; pe durata întregului experiment au fost respectate normele Convenției Europene pentru protecția animalelor vertebrate utilizate în scop experimental (Strasbourg, 1986). După 10 săptămâni de la inducerea diabetului, șobolani au fost sacrificați (6 șobolani din lotul martor și 12 șobolani diabetici) și au fost prelevate biopsii cutanate de la nivelul cefei. Pentru examenul histopatologic s-au folosit următoarele colorații: Hematoxină-Eozină (H&E), colorație ce permite o bună diferențiere a tipurilor celulare și Tricrom-Masson (T&M) ce permite observarea într-o manieră selectivă din punct de vedere cromatic a fibrelor musculare, a elementelor celulare și în special a fibrelor de colagen. Imaginea microscopică a fost obținută cu ajutorul microscopului Olympus BX 5. Preluarea imaginilor s-a realizat cu ajutorul unei camere digitale Olympus SP 350. Programul folosit pentru prelucrarea datelor obținute a fost „Cell B soft”. Pentru analiza statistică am utilizat SPSS v17.0 și modulul Data Analysis din Microsoft Excel. Pentru descrierea variabilelor numerice am utilizat media și deviația standard, iar pentru calculul semnificației statistice am utilizat testul *t*, fiind considerat semnificativ statistic un $p < 0,05$.

Rezultate

Rata de succes a inducerii diabetului la șobolan prin injectarea a 25mg/kg corp STZ a fost de peste 90% (27 cazuri diabet din 29 șobolani injectați), dar rata de deces pe parcursul desfășurării celor 10 săptămâni de studiu a fost de 55%, chiar dacă a fost administrată insulinoterapie (dar șobolani au fost subinsulinizați, astfel încât glicemia bazală să nu scadă sub 250mg/dl), la finalul studiului ajungând 41% din cazuri. Șobolani diabetici au scăzut semnificativ în greutate în cele 10 săptămâni de studiu, atât față de martori ($p=0,04$), cât și față de greutatea proprie inițială ($p < 0,001$). Șobolani diabetici au prezent de asemenea hiperglicemie și poliurie semnificativ crescute față de șobolani martori ($p < 0,001$). Din punct de vedere histologic, față de lotul martor, la cel diabetic s-a observat o atrofiere a epidermului prin reducerea numărului de celule, îndeosebi a celor din stratul spinos, fiind și o diferență de cheratinizare între cele două loturi, la cel diabetic procesul de cheratinizare fiind mult mai intens. La unii indivizi din lotul diabetic s-a evidențiat degenerare hidropică a celulelor spinoase. Histologic, nu au fost prezente modificări ale glandelor sebacee sau la nivelul foliculilor piloși. Din punct de vedere histometric, grosimea SC la șobolanul cu diabet este semnificativ redusă față de cea a șobolanului sănătos ($p < 0,001$).

Concluzii

Diabetul zaharat duce în timp la scăderea grosimii epitelului la șobolani, mai ales prin reducerea stratului spinos. Se observă un proces de cheratinizare mai intensă la șobolani, fără modificări la nivelul glandelor sebacee sau a foliculilor piloși.

CONCLUZII FINALE

Prin prisma rezultatelor obținute din cele 3 studii desfășurate, putem formula următoarele concluzii: în studiile noastre mai mult de jumătate dintre pacienți au avut PNP, iar peste 2/3 dintre pacienți au fost insulinotratați. Am putea să caracterizăm efectul pe care diabetul, împreună cu complicațiile sale, îl au asupra tegumentului, astfel: **îmbătrânire prematură a stratului cornos**, prin scăderea hidratării SC și a sebumetriei în anumite puncte, cu păstrarea TEWL. **Hidratarea SC** este redusă, cel puțin în unele regiuni, datorită prezenței diabetului, dar dacă este asociată și PNP, aceste modificări sunt mai severe. **Funcția de barieră**, cunoscută prin valoarea TEWL, se păstrează. Scăderea hidratării SC, dar cu păstrarea TEWL, sunt modificări caracteristice îmbătrânirii. În plus, diabeticii sub 50 ani au valori semnificativ mai mici ale gradului de hidratare a SC decât martorii tineri, dar valorile sunt comparabile cu cele ale martorilor peste 50 ani. **Sebumetria cutanată** este semnificativ mai mare la bărbați, atât la martori, cât și la diabetici. Aceste rezultate probabil se datorează constelației hormonale. Secreția de sebum este influențată, cel puțin în anumite puncte, de prezența diabetului, a PNP și a insulinoterapiei. **Elasticitatea cutanată** este o proprietate fizică a tegumentului care este strâns corelată cu vârsta, indiferent că vorbim despre lotul de diabetici sau cel de martori. Prezența tipului 2 de diabet pare să fie predictor pentru scăderea semnificativă a elasticității cutanate măsurate la nivelul coapsei, după ce se face ajustare pentru vârstă, sex sau insulinoterapie, probabil datorită prezenței produșilor de glicare avansată. **Histologia tegumentului** supus acțiunii hiperglicemiei și hipoinsulinizării la șobolani, timp de 10 săptămâni, arată subțierea semnificativă a SC, mai ales prin scăderea grosimii stratului spinos, fără modificarea aspectului glandelor sebacee. La șobolani diabetici apare hipercheratinizarea SC. **Histometria cutanată** arată că șobolani diabetici prezintă subțierea SC față de martori. În concluzie, diabeticii prezintă modificări ale proprietăților fizice ale tegumentului, prezența PNP crescând severitatea acestora, în sensul îmbătrânirii premature a SC.

University de Medicine and Phamacy “Iuliu Hațieganu” Cluj Napoca

PhD THESIS

**CHANGES IN PHYSICAL PROPERTIES OF SKIN IN PATIENTS WITH DIABETES
MELLITUS**

ABSTRACT

PhD Supervisor
Proffesor Alexandru Tătaru

PhD Student
Anca-Elena Crăciun

SUMMARY

INTRODUCTION	17
2. Anatomy and physiology of skin	21
2.1. Epidermis	22
2.2. Dermis	28
2.3. Hypodermis	31
3. Skin functions	31
3.1. Barrier function against water loss	31
3.2. Protection against mechanical injuries, heat and harmful environmental factors	32
3.3. Thermoregulatory function	33
3.4. Immunological role	34
3.5. Neuroreceptor function	34
3.6. Metabolic role	35
3.7. Other functions	35
4. Physical properties of skin: hydration of stratum corneum, transepidermal water loss, skin elasticity and sebumetry of skin	36
4.1. Hydration of SC	37
4.2. Transepidermal water loss (TEWL)	39
4.3. Skin sebumetry	39
4.4. Skin elasticity	40
5. Influence of diabetes on the skin	40
PERSONAL CONTRIBUTION	
1. Working hypothesis / objectives	47
2. General methodology	48
2.1. Types of studies	48
2.2. Subjects	48
2.3. Participation in the study	48
2.4. The software used for statistical analysis and definition of statistical analysis plan	49
3. Studiul 1 – Changes in the physical properties of skin in patients with	50

diabetes mellitus	
3.1. Introduction	50
3.2. Working hypothesis / objectives	50
3.3. Materials and methods	50
3.3.1. Subjects	50
3.3.2. Inclusion criteria	50
3.3.3. Exclusion criteria	51
3.3.4. Description of technical means of investigation	51
3.3.4.1. Corneometer CM 825	52
3.3.4.2. Sebumeter SM 815	53
3.3.4.3. Tewameter TM 300	53
3.3.4.4. Cutometer MPA 580	54
3.3.5. Anatomical regions where measurements were made	54
3.4. Results	55
3.4.1. Characteristics of the study group	55
3.4.1.1. Age	55
3.4.1.2. Gender	55
3.4.1.3. Anthropometric indices	55
3.4.1.4. Type of diabetes	56
3.4.1.5. Pharmacotherapy of diabetes	56
3.4.1.6. The presence of diabetic polyneuropathy	57
3.4.2. Hydration of SC	57
3.4.2.1. SC hydration in diabetics group vs. control group	57
3.4.2.2. SC hydration in diabetics according to diabetes pharmacotherapy	58
3.4.2.3. SC hydration in diabetics according to the type of diabetes	58
3.4.2.4. SC hydration in diabetics according to the presence of diabetic polyneuropathy	58
3.4.2.5. SC hydration in diabetics according to medium term glycemic control	60
3.4.2.6. SC hydration according to age	60
3.4.3. Skin sebumetry	61
3.4.3.1. Skin sebumetry in diabetics group vs. control group	61
3.4.3.2. Skin sebumetry in diabetics according to diabetes pharmacotherapy	61
3.4.3.3. Skin sebumetry in diabetics according to the type of diabetes	62
3.4.3.4. Skin sebumetry in diabetics according to the presence of diabetic polyneuropathy	63
3.4.3.5. Skin sebumetry in diabetics according to medium term glycemic control	64
3.4.3.6. Skin sebumetry according to age	65
3.4.4. Transepidermal water loss (TEWL)	65
3.4.4.1. TEWL in diabetics group vs. control group	65
3.4.4.2. TEWL in diabetics according to diabetes pharmacotherapy	65
3.4.4.3. TEWL in diabetics according to the type of diabetes	65
3.4.4.4. TEWL in diabetics according to the presence of diabetic polyneuropathy	66
3.4.4.5. TEWL in diabetics according to medium term glycemic control	66

3.4.4.6. TEWL according to age	66
3.4.5. Skin elasticity	67
3.4.5.1. Skin elasticity in diabetics group vs. control group	67
3.4.5.2. Skin elasticity in diabetics according to diabetes pharmacotherapy	67
3.4.5.3. Skin elasticity in diabetics according to the type of diabetes	68
3.4.5.4. Skin elasticity in diabetics according to the presence of diabetic polyneuropathy	69
3.4.5.5. Skin elasticity in diabetics according to medium term glycemic control	69
3.4.5.6. Skin elasticity according to age	70
3.5. Discussion	70
3.6. Conclusions	73
4. Studiul 2 – Study 2 - Correlations and predictors of hydration of SC, TEWL, skin elasticity and skin sebumetry	75
4.1. Introduction	75
4.2. Working hypothesis / objectives	75
4.3. Materials and methods	75
4.3.1. Subjects	75
4.3.2. Inclusion and exclusion criteria	75
4.3.3. Description of technical means of investigation	76
4.3.4. Anatomical regions where measurements were made	76
4.4. Results	76
4.4.1. Characteristics of the study group	76
4.4.2. Correlations and predictors of SC hydration	77
4.4.2.1. Correlations of SC hydration in the group of subjects without diabetes	77
4.4.2.2. Correlations of SC hydration in the group of subjects with diabetes	78
4.4.2.3. Correlations of SC hydration in the group of subjects with type 1 diabetes	79
4.4.2.4. Correlations of SC hydration in the group of subjects with type 2 diabetes	79
4.4.2.5. Predictors of SC hydration	80
4.4.3. Correlations and predictors of skin sebumetry	81
4.4.3.1. Correlations of skin sebumetry in the group of subjects without diabetes	81
4.4.3.2. Correlations of skin sebumetry in the group of subjects with diabetes	82
4.4.3.3. Correlations of skin sebumetry in the group of subjects with type 1 diabetes	82
4.4.3.4. Correlations of skin sebumetry in the group of subjects with type 2 diabetes	83
4.4.3.5. Predictors of skin sebumetry	83
4.4.4. Correlations and predictors of TEWL	85
4.4.4.1. Correlations of TEWL in the group of subjects without diabetes	85
4.4.4.2. Correlations of TEWL in the group of subjects with diabetes	85
4.4.4.3. Correlations of TEWL in the group of subjects with type 1 diabetes	85
4.4.4.4. Correlations of TEWL in the group of subjects with type 2 diabetes	85

4.4.4.5. Predictors of TEWL	86
4.4.5. Correlations and predictors of skin elasticity	87
4.4.5.1. Correlations of skin elasticity in the group of subjects without diabetes	87
4.4.5.2. Correlations of skin elasticity in the group of subjects with diabetes	87
4.4.5.3. Correlations of skin elasticity in the group of subjects with type 1 diabetes	88
4.4.5.4. Correlations of skin elasticity in the group of subjects with type 1 diabetes	88
4.4.5.5. Predictors of skin elasticity	89
4.5. Discussion	90
4.6. Conclusions	94
5. Study 3 - The effect of diabetes on rat skin - experimental study	96
5.1. Introduction	96
5.2. Working hypothesis / objectives	96
5.3. Materials and methods	97
5.4. Results	98
5.4.1. Clinical and biological assessment	98
5.4.1.1. Weight	98
5.4.1.2. Glucose level	99
5.4.1.3. Diuresis	100
5.4.2. Histological evaluation of the skin	100
5.4.2.1. Histology	100
5.4.2.2. Histometry	103
5.5. Discussion	103
5.6. Conclusions	104
7. Discussion	106
7. General conclusions	110
8. Originality and innovative contributions of the thesis	111
REFERENCES	113
ATTACHMENTS	121

Keywords: diabetes mellitus, skin hydration, sebumetry, skin elasticity, transepidermal water loss (TEWL)

ABSTRACT

Introduction

Skin is a dynamic organ, extremely complex, which is maturing and aging differently, depending on multiple factors, including age, sex, exposure to factors in the external environment, lifestyle and related diseases. Diabetes mellitus is characterized by impaired production or mechanism of action of insulin, specific metabolic feature of increasing plasma glucose, leading to chronic complications involving several tissues. The mechanism by which diabetes causes damage of the skin is not known. Usually, it is assumed that most complications are induced by

hyperglycemia. However, diabetes status is characterized by impaired action/secretion of insulin, in addition to hyperglycemia. It was shown in previous studies that insulin is a growth factor essential for keratinocytes in vitro and has a substantial influence on their proliferation and migration. It was also shown that insulin regulates keratinocytes differentiation, expressing insulin receptors and intracellular transport system. There are few studies in the literature focused on determining the physical properties of skin [hydration of stratum corneum (SC), transepidermal water loss (TEWL), elasticity and skin sebumetry] in patients with diabetes, their measuring devices being developed recently. Its purpose is to achieve a complete and well structured characterization of physical properties of skin in patients with diabetes. These measurements provide data on the SC hydration, barrier function (measured by TEWL), elasticity and skin sebumetry.

CURRENT KNOWLEDGE

In this chapter data are summarized on anatomy, physiology and function of skin in most recent published scientific information. The focus is on describing the physical properties of skin: hydration of the stratum corneum, transepidermal water loss, skin elasticity and sebumetry and diabetes influence on these properties.

PERSONAL CONTRIBUTION

The main objective was to compare the physical properties of the skin of diabetic patients, with the subjects without diabetes, with the same age and sex. We performed measurements of hydration of SC barrier function (measured by TEWL), skin elasticity and the skin sebumetry.

Secondary objectives of these studies were:

- To determine the impact of glycemic control on these physical properties of the skin (evaluated by HbA1c value);
- The association between changes in physical properties of skin and the presence of certain chronic complications of diabetes (eg. degree of hydration of SC and presence of diabetic neuropathy);
- Assessment of the impact of insulin therapy on the physical properties of the skin;
- Correlations between physical properties of skin and other variables: gender, age, body mass index, type of diabetes, antihyperglycemic treatment and predictors of physical properties of skin;
- Influence of age on the physical properties of skin;
- Changes in skin histology occurring in diabetes mellitus.

The thesis consists of 3 trials: 2 observational trials, one was a case-control trial and the other was a cohort trial and an experimental study, conducted with Wistar rats.

Study 1: Changes in physical properties of skin in patients with diabetes mellitus

Study 2: Correlations and predictors of degree of skin hydration, transepidermal water loss, the skin elasticity and skin sebumetriei

Study 3: Effect of diabetes on rat skin - experimental study.

Study 1: Changes in physical properties of skin in patients with diabetes mellitus

The main objective was to compare the physical properties of the skin of diabetic patients, with the subjects without diabetes, with the same age and sex. We performed measurements of hydration of SC barrier function (measured by TEWL), skin elasticity and the skin sebumetry.

Secondary objectives of this study were to determine the impact of glycemic control (quantified as HbA1c), on these physical properties; the association between changes in physical properties of skin and the presence of certain chronic complications of diabetes (eg. hydration of SC and diabetic neuropathy), assessing the impact of insulin therapy on the physical properties of the skin, the influence of age on the physical properties of skin.

Materials and methods

The study involved 44 patients diagnosed with type 1 or type 2 diabetes mellitus and 41 subjects without diabetes, adjusted for age and gender. For the measurements of physical properties of the skin we used the device named Multi Probe Adapter Systems MPA ® (product of Courage-Khazaka, Germany), with 4 probes: Corneometer ® CM 825 - for determining the hydration of SC; Tewameter ® TM 300 - to determine transepidermal water loss; Sebumeter ® SM 815 - to determine the quantity of sebum, Cutometer ® MPA 580 - to measure skin elasticity. The device is connected to a PC, each probe with its program to display data, Windows compatible. The hydration of SC was measured in 3 points: the left volar forearm, the left anterolateral thigh and the back of the left leg. Skin sebum measurement was performed in two points: the left volar forearm and left leg. TEWL measurement was performed in a single point, the left forearm. Skin elasticity measurement was performed in 4 points: the back of the right hand, the right volar forearm, the anterolateral right thigh and right angle of the eye.

Results

In this case-control cross-sectional study participated 44 patients with diabetes mellitus and 41 controls adjusted for age and gender (53.07 ± 12.13 vs. 52.24 ± 2.97 years, $p = 0.76$). The study group consisted mostly of women (68.18% vs. 31, 82), as well as the control group (68.3% vs. 31.7%). Most patients in the control group were overweight or obese (71%), however in type 2 diabetic group the BMI was significantly higher, 86.8% of them being overweight or obese. About three quarters of cases in the study group were type 2 diabetes (73.2%) and about one quarter have been cases of type 1 diabetes (26.8%). However, 75.6% of patients were insulinotreated. About half of patients in the study group had diabetes complicated with diabetic polyneuropathy (PNP). The hydration of SC was significantly decreased at some measurement points in the following situations: a) in diabetics than in controls ($p = 0.008$ in the forearm), b) in insulinotrated diabetics compared with diabetics treated with oral therapy (in the thigh $p = 0.04$), c) in diabetic patients with PNP compared with controls ($p = 0.002$ in the forearm and $p = 0.001$ in the thigh and leg), d) in diabetics with PNP compared with diabetics without PNP ($p = 0.009$ in the forearm, $p = 0.001$ in the thigh and $p = 0.01$ in the foot), e) in diabetics with HbA1c value greater than or equal to 6.5% compared with controls ($p = 0.002$ in the hand and thigh and 0.001 in the foot). Hydration of SC was significantly lower in diabetics under 50 years vs. control of the same age and is comparable with SC hydration of controls over 50 years. There was no statistical significance in hydration of SC when type 1 and type 2 diabetes patients were compared with each other, controls were compared with patients treated with OADs and with diabetics without PNP. Skin sebumetry was significantly lower in some measurement points, as follows: a) the insulinotreated diabetic patients (both type 1 and type 2 diabetes) to controls (in the leg $p = 0.043$), b) in type 1 diabetes compared with controls ($p = 0.011$ in the lower leg), c) in diabetic patients with PNP compared with controls ($p = 0.046$ and 0.026 in the forearm and leg), d) diabetics under the age of 50 years had a significantly lower value of sebumetry in the leg ($p = 0.04$) compared with control of the same age. There was no statistical significance regarding skin sebumetry when we compared the group of controls to the group of

diabetics in general, or type 2 diabetes (with or without insulinotherapy), or those treated with OADs. There was not significant difference in diabetics treated with OADs or to those insulinotreated, or between patients with type 1 or 2 diabetes, with or without PNP, or controls and diabetic patients. Skin sebumetry of diabetic patients under the age of 50 years was comparable to that of controls over 50 years. TEWL from the forearm showed no statistical significance between groups in any situation. Skin elasticity was significantly lower in controls than in type 1 diabetes group in the thigh, $p = 0.001$ (probably due to lower age) and diabetes under the age of 50 years versus controls with the same age ($p = 0.001$ in the forearm). Skin elasticity of diabetics older than 50 years was comparable to that of controls over 50 years, but diabetics under 50 years have a significantly better skin elasticity than diabetics over 50 years.

Conclusions

Diabetes particularly affects the hydration of SC and skin sebumetry. Damage is more severe in combination with PNP. TEWL is not affected by diabetes, and skin elasticity and skin sebumetry is reduced at diabetics under the age of 50 years versus controls with the same age. Decreased hydration of SC, without changing in TEWL value, are the physical changes of skin that occur with age and these are the changes observed in diabetic compared with controls adjusted for age and gender.

Study 2: Correlations and predictors of hydration of SC, transepidermal water loss of skin elasticity of skin sebumetry

The main objective was to find correlations and predictors of hydration of SC, transepidermal water loss, skin elasticity and skin sebumetry. Thus, we conducted a cross-sectional cohort study, cohort.

Materials and methods

The study involved 57 patients diagnosed with type 1 or type 2 diabetes and 46 subjects without diabetes. Participation was voluntary, before conducting any study procedure the Informed Consent Form was signed. For the measurements of physical properties of the skin we used the device named Multi Probe Adapter Systems MPA ® (product of Courage-Khazaka, Germany), with 4 probes: Corneometer ® CM 825 - for determining the hydration of SC; Tewameter ® TM 300 - to determine transepidermal water loss; Sebumeter ® SM 815 - to determine the quantity of sebum, Cutometer ® MPA 580 - to measure skin elasticity. The device is connected to a PC, each probe with its program to display data, Windows compatible. The hydration of SC was measured in 3 points: the left volar forearm, the left anterolateral thigh and the back of the left leg. Skin sebum measurement was performed in two points: the left volar forearm and left leg. TEWL measurement was performed in a single point, the left forearm. Skin elasticity measurement was performed in 4 points: the back of the right hand, the right volar forearm, the anterolateral right thigh and right angle of the eye.

Results

Diabetic polyneuropathy was associated with 54.38% of diabetic cases in the study. It was present in 64.3% cases of type1 diabetes and 51.16% cases of type2 diabetes. The hydration of SC in diabetic patients was significantly correlated with the presence of PNP ($p < 0.001$). If we analyzed the entire group, height ($p = 0.027$ in the forearm, $p < 0.001$ in the hand and foot), weight ($p = 0.04$ in the thigh) and gender seem to correlate with the hydration of SC at some measurement points, and women appear to have a decreased water content of SC compared to men ($p = 0.003$ in the forearm,

0.004 in the thigh and $p < 0.001$ in the foot). Presence of diabetes is associated with significant decreases in hydration of SC ($p = 0.005$), but if correction is made for the presence of neuropathy, it appears that this correlation disappears. However, diabetic polyneuropathy remains significantly associated with decreased skin hydration at all measurement points ($p < 0.001$). Skin sebumetry is significantly correlated with the presence of PNP ($p = 0.018$ in the leg); women, with or without diabetes, have a significantly lower skin sebumetry than men at both measurement points ($p < 0.05$). If we analyzed the entire group height, weight and TEWL appear to correlate significantly with skin sebumetry. In terms of predictors, skin sebumetry correlate with gender, men having significantly higher values than women in the whole group and in diabetic group ($p < 0.05$). In the leg, skin sebumetry is negatively associated with the presence of PNP, but it is not affected by diabetes. If we adjust for age and gender, associations disappear. If we compare insulin treated patients with diabetics treated with OADs, the skin sebumetry is significantly lower ($p = 0.02$). Transepidermal water loss (TEWL) in patients with diabetes correlates with skin elasticity and gender, men having a higher transepidermal water loss than women. Statistically significant predictor of an increased transepidermal water loss in the forearm was male gender ($p = 0.006$). Skin elasticity correlated significantly with age in diabetic patients ($p \leq 0.006$ in the hand, forearm and thigh), skin sebumetry ($p = 0.032$ in the hand), TEWL ($p < 0.05$ in the forearm), type of treatment ($p = 0.025$ in the thigh) or type of diabetes ($p < 0.03$ in the thigh and forearm). Statistically significant predictor of a low elasticity at all points of measurement (except angle eye) was age ($p < 0.001$). Type 2 diabetes seems to be predictor for reduced skin elasticity in the thigh ($p < 0.001$).

Conclusions

Presence of PNP, rather than diabetes itself, seems to lead to impaired SC hydration in diabetic patients. Females, due to different hormonal constellation, appear to have reduced production of sebum, which affects the hydration of SC and TEWL. Skin elasticity decrease in the thigh is associated with type 2 diabetes.

Study 3: Effect of diabetes on rat skin - experimental study

The main objective was to see if the STZ-induced diabetes in rats, after 10 weeks of development, may disrupt the histological structure of rat skin and affects the skin histometry.

Materials and methods

For this study we used 35 adult Wistar rats. Diabetes was induced in rats by a single STZ injection (dissolved in saline) at a dose of 25 mg/kg. After 3 days and one week after injection, capillary blood glucose was measured by using the glucometer, considering that the rat is diabetic if it had blood sugar over 250 mg/dl. For survival, diabetic rats were subinsulinized – at every 2-3 days long-acting insulin (Lantus, Sanofi-Aventis) was injected, depending on blood sugar level measured in the morning, so as no severe ketoacidosis and death occur, but hyperglycemia status was maintained. 26 blood sugar levels were measured for each rat in the study group. The control group consisted of rats that did not receive STZ. During the study water and food were provided ad libitum and the sleep-wake rhythm (12h light and 12h dark) was respected. Urine output measurement was performed using metabolic cages. The whole experiment was conducted according with rules of the European Convention for the Protection of Animals vertebrates used for experimental purposes (Strasbourg, 1986). After 10 weeks after diabetes induction, rats were sacrificed (6 rats in the control group and 12 diabetic rats) and skin biopsies were taken from the neck. For histopathological

examination were used following stains: haematoxylin and eosin (H & E) staining allows a good differentiation of cell types and Trichrome-Masson (T & M) staining allows observing a selective basis in terms of color of muscle fibers, especially the cellular elements and collagen fibers. Microscopic image was obtained with a microscope Olympus BX 5. Taking pictures was performed using an Olympus SP 350 digital camera. For data processing was used the program named "Cell B software". For statistical analysis we used SPSS v17.0 and Microsoft Excel Data Analysis module. To describe numerical variables we used the average and standard deviation, and to calculate statistical significance t-test was used, a p value lower or equal to 0.005 being considered statistically significant.

Results

The success rate of induction of diabetes in rats by injecting STZ 25mg/kg body weight was 90% (27 of 29 rats injected), but the death rate during the course of 10 weeks of study was 55%, even when insulin was administered (but rats were subinsulinized as the basal glucose level was over 250mg/dl). Diabetic rats had a significant decreased of the body weight at the end of this 10-weeks study, as compared with controls ($p = 0.04$) and to its own initial weight ($p < 0.001$). Diabetic rats showed hyperglycemia and polyuria also significantly higher than controls rats ($p < 0.001$). From histologically point of view, in the diabetic group was developed a process of epidermal atrophy by reduction of the number of cells, especially from the spinous layer. A difference in the keratinization process was observed between the two groups, in the diabetic rats the process being more intense. In some individuals from the diabetic group was observed hydropic degeneration of the spinous cells. Histological changes were not present in the sebaceous glands or hair follicles. Regarding histometry, SC thickness in diabetic rats was significantly reduced compared to the healthy rats ($p < 0.001$).

Conclusions

Diabetes leads to lower thickness of epithelium in rats by reduction of spinous layer. Keratinization process is observed more intense in rats with diabetes, without changes in the sebaceous glands or hair follicles.

GENERAL CONCLUSIONS

In the light of the results of the three studies conducted, we can draw the following conclusions: diabetes particularly affects the hydration of SC and skin sebumetry. Damage is more severe in combination with PNP. TEWL is not affected by diabetes and skin elasticity and skin sebumetry is reduced at diabetics under the age of 50 years versus controls with the same age. Decreased hydration of SC, without changing in TEWL value, are the physical changes of skin that occur with age and these are the changes observed in diabetic compared with controls adjusted for age and gender. Skin sebumetry is significantly higher in men, both in controls and in diabetics. These results may be due to hormonal constellation. Sebum secretion is influenced, at least in some respects, by the presence of diabetes, the PNP and insulin therapy. Skin elasticity is a physical property which is closely correlated with age, whether we talk about the diabetic group or controls. The presence of type2 diabetes seems to be a significant predictor of decreased skin elasticity measured in the thigh, after making adjustments for age, gender or insulinotherapy, probably due to the presence of advanced glycation products. Histology of rat skin under the action of hyperglycemia, after 10 weeks, showed a significant thinning of the SC, especially in reduction of the lower spinous layer

thickness, without changing in the appearance of sebaceous glands or hair follicles. Diabetic rats also showed a hyperkeratinization process of SC. In conclusion, diabetic patients have changes in physical properties of skin, presence of PNP increased severity in the sense of premature aging SC.

THÈSE DE DOCTORAT

**MODIFICATIONS DES PROPRIÉTÉS PHYSIQUES DU TÉGUMENT CHEZ LES
PACIENTS SOUFFRANT DE DIABÈTE SUCRÉ**

Directeur de thèse

Prof. Dr. Alexandru Tataru

Doctorant

Dr. Anca Elena Craciun

RÉSUMÉ

Table des matières

INTRODUCTION	17
CONNAISSANCES ACTUELLES	21
1. Introduction	22
2. Anatomie et physiologie de la peau	28
2.1. Epiderme	31
2.2. Derme	31
2.3. Hypoderme	32
3. Fonctions de la peau	33
3.1. La fonction de barrière contre la perte d'eau	34
3.2. Protection contre les blessures mécaniques, thermiques et les facteurs environnementaux nuisibles	34
3.3. Fonction de thermorégulation	35
3.4. Le rôle immunologique	35
3.5. Fonction de neurorécepteur	36
3.6. Rôle métabolique	36
3.7. Autres fonctions	36
4. Les propriétés physiques de la peau: degré d'hydratation, perte insensible en eau, sebumétrie, élasticité de la peau	36
4.1. Le degré d'hydratation de la peau de la SC	36
4.2. Perte d'eau transépidermique (PETE)	37
4.3. Sebumétrie cutané	39
4.4. Élasticité cutané	39
5. Influence du diabète sur la peau	40
CONTRIBUTION PERSONNELLE	
1. Hypothèse de travail / objectifs	47
2. Méthodologie générale	48
2.1. Types d'études	48
2.2. Sujets	48
2.3. Participation à l'étude	48
2.4. Le logiciel utilisé pour l'analyse statistique et la définition du plan d'analyse	49

statistique	
3. L'étude 1 - Changements dans les propriétés physiques de la peau chez les patients atteints de diabète	50
3.1. Introduction	50
3.2. Hypothèse de travail / objectifs	50
3.3. Matériels et méthodes	50
3.3.1. Sujets	50
3.3.2. Les critères d'inclusion	50
3.3.3. Les critères d'exclusion	51
3.3.4. Description de moyens techniques d'investigation	51
3.3.4.1. CM Cornéomètre 825	52
3.3.4.2. Sébumètre SM 815	53
3.3.4.3. Tewlmetre TM 300	53
3.3.4.4. Cutomètre MPA 580	54
3.3.5. Régions anatomiques où des mesures ont été faites	54
3.4. Résultats	55
3.4.1. Caractéristiques du groupe d'étude	55
3.4.1.1. Âge	55
3.4.1.2. Sexe	55
3.4.1.3. Les indices anthropométriques	55
3.4.1.4. Type de diabète	56
3.4.1.5. Pharmacothérapie du diabète	56
3.4.1.6. La présence de la polyneuropathie diabétique	57
3.4.2. Hydratation du SC	57
3.4.2.1. Hydratation du SC chez les diabétiques vs témoins	57
3.4.2.2. Hydratation du SC chez les diabétiques selon la pharmacothérapie du diabète	58
3.4.2.3. Hydratation chez les diabétiques SC, selon le type de diabète	58
3.4.2.4. Hydratation du SC chez les diabétiques, selon la présence de la polyneuropathie diabétique	58
3.4.2.5. Hydratation du SC chez les diabétiques, selon le contrôle glycémique à moyen terme	60
3.4.2.6. Hydratation du SC selon l'âge	60
3.4.3. La peau Sebumetrie	61
3.4.3.1. Sebumetrie chez les diabétiques par rapport aux témoins	61
3.4.3.2. Sebumetrie chez les diabétiques selon la pharmacothérapie du diabète	61
3.4.3.3. Sebumetrie chez les diabétiques, selon le type de diabète	62
3.4.3.4. Sebumetrie chez les diabétiques, selon la présence de la polyneuropathie diabétique	63
3.4.3.5. Sebumetrie chez les diabétiques, selon le contrôle glycémique à moyen terme	64
3.4.3.6. Sebumetrie selon l'âge	65
3.4.4. Perte insensible en eau (PIE)	65
3.4.4.1. PIE chez les diabétiques par rapport aux témoins	65
3.4.4.2. PIE chez les diabétiques selon la pharmacothérapie du diabète	65

3.4.4.3. TEWL chez les diabétiques, selon le type de diabète	65
3.4.4.4. TEWL chez les diabétiques, selon la présence de la polyneuropathie diabétique	66
3.4.4.5. TEWL chez les diabétiques, selon le contrôle glycémique à moyen terme	66
3.4.4.6. PIE selon l'âge	66
3.4.5. Élasticité de la peau	67
3.4.5.1. Élasticité chez les diabétiques par rapport aux témoins	67
3.4.5.2. Élasticité chez les diabétiques, selon la pharmacothérapie du diabète	67
3.4.5.3. Élasticité chez les diabétiques, selon le type de diabète	68
3.4.5.4. Élasticité chez les diabétiques, selon la présence de la polyneuropathie diabétique	69
3.4.5.5. Élasticité chez les diabétiques, selon le contrôle glycémique moyen	69
3.4.5.6. Élasticité selon âge	70
3.5. Discussion	70
3.6. Conclusions	73
4. L'étude 2 - Corrélations et prédicteurs du degré d'hydratation cutané, de la perte d'eau transépidermique, de la sebumétrie et de l'élasticité de la peau.	75
4.1. Introduction	75
4.2. Hypothèse de travail / objectifs	75
4.3. Matériels et méthodes	75
4.3.1. Sujets	75
4.3.2. Les critères d'inclusion et d'exclusion	75
4.3.3. Description de moyens techniques d'investigation	76
4.3.4. Régions anatomiques où les mesures ont été faites	76
4.4. Résultats	76
4.4.1. Caractéristiques du groupe d'étude	76
4.4.2. Les corrélations et les prédicteurs du degré d'hydratation de la SC	77
4.4.2.1. Les corrélations du degré d'hydratation de la SC dans le groupe de sujets non-diabétiques	77
4.4.2.2. Les corrélations du degré d'hydratation de la SC dans le groupe de sujets atteints de diabète	78
4.4.2.3. Les corrélations du degré d'hydratation de la SC dans le groupe des sujets atteints de diabète de type 1	79
4.4.2.4. Les corrélations du degré d'hydratation de la SC dans le groupe des sujets atteints de diabète de type 2	79
4.4.2.5. Prédicteurs du degré d'hydratation de la SC	80
4.4.3. Les corrélations et les prédicteurs de la sebumétrie cutanée	81
4.4.3.1. Les corrélations de la sebumétrie cutanée dans le groupe de sujets non-diabétiques	81
4.4.3.2. Les corrélations de la sebumétrie cutanée dans le groupe de sujets atteints de diabète	82
4.4.3.3. Les corrélations de la sebumétrie cutanée dans le groupe de sujets ayant un diabète de type 1	82
4.4.3.4. Les corrélations de la sebumétrie cutanée dans le groupe de sujets ayant un diabète de type 2	83

4.4.3.5. Les prédictors de la sebumetrie cutanée	83
4.4.4. Les corrélations et prédictors de la perte d'eau transépidermique (PETE)	85
4.4.4.1. Les corrélations de PETE dans le groupe de sujets non-diabétiques	85
4.4.4.2. Les corrélations de PETE dans le groupe de sujets atteints de diabète	85
4.4.4.3. Les corrélations de PETE dans le groupe des sujets atteints de diabète de type 1	85
4.4.4.4. Les corrélations de PETE dans le groupe des sujets atteints de diabète de type 2	85
4.4.4.5. Les prédictors de la PETE	86
4.4.5. Les corrélations et les prédictors d'élasticité cutanée	87
4.4.5.1. Les corrélations d'élasticité cutanée dans le groupe de sujets non-diabétiques	87
4.4.5.2. Les corrélations d'élasticité cutanée dans le groupe de sujets atteints de diabète	87
4.4.5.3. Les corrélations d'élasticité cutanée dans le groupe des sujets atteints de diabète de type 1	88
4.4.5.4. Les corrélations d'élasticité cutanée dans le groupe des sujets atteints de diabète de type 2	88
4.4.5.5. Les prédictors d'élasticité cutanée	89
4.5. Discussions	90
4.6. Conclusions	94
5. Étude 3 - L'effet du diabète sur la peau de rat - étude expérimentale	96
5.1. Introduction	96
5.2. Hypothèse de travail / objectifs	96
5.3. Matériels et méthodes	97
5.4. Résultats	98
5.4.1. L'évaluation clinique et biologique	98
5.4.1.1. Le poids	98
5.4.1.2. La glucose	99
5.4.1.3. La diurèse	100
5.4.2. L'examen histologique cutané	100
5.4.2.1. Histologie	100
5.4.2.2. Histométrie	103
5.5. Discussions	103
5.6. Conclusions	104
6. Discussions	106
7. Conclusions générales	110
8. L'originalité et les contributions novatrices de la thèse	111
RÉFÉRENCES	113
ACCESSOIRES	121

Mots-clés : diabète sucré, hydratation cutanée, sébumétrie, élasticité cutanée, perte d'eau transépidermique (TEWL).

RÉSUMÉ

Introduction

Le tégument est un organe dynamique, extrêmement complexe, qui se développe et vieillit de façon différenciée, selon multiples facteurs, parmi lesquels on trouve l'âge, l'exposition aux facteurs extérieurs, le style de vie et les maladies associées.

Le diabète sucré est caractérisé par la modification de la production de l'insuline ou de son mécanisme d'action, ayant comme caractéristique métabolique spécifique l'augmentation du glucose plasmatique, ce qui conduit, au fil du temps, à des complications chroniques, qui impliquent plusieurs tissus. Le mécanisme exact par lequel le diabète modifie le tégument n'est pas connu. D'habitude, on suppose que la plupart des complications induites par le diabète sucré sont dues à l'hyperglycémie associée à cette maladie. Toutefois, le statut du diabète sucré inclut, outre l'hyperglycémie, la modification de l'action / de la sécrétion de l'insuline. Des études antérieures ont démontré que l'insuline est un facteur de croissance essentiel pour les kératinocytes *in vitro* et qu'elle a une influence substantielle sur la prolifération et la migration de celles-ci. Il a également été démontré que l'insuline règle la différenciation des kératinocytes, qui expriment les récepteurs de l'insuline et un système intracellulaire de transport.

Dans la littérature il y a peu d'études axées sur la détermination des propriétés physiques du tégument (taux d'hydratation, perte d'eau transépidermique, élasticité et sébumétrie) chez les patients souffrant de diabète sucré, puisque les dispositifs de mesure de celles-ci sont assez récemment développés. Le but de cet ouvrage est de réaliser une caractérisation complète et bien structurée des propriétés physiques du tégument chez les patients souffrant de diabète sucré. Ces mesures fournissent des données sur le taux d'hydratation de la couche cornée (CC), la fonction de barrière (mesurée par la valeur TEWL - transepidermal water loss), élasticité, ainsi que la sébumétrie.

L'ÉTAT ACTUEL DES CONNAISSANCES

Où l'on présente de manière succincte des données concernant l'anatomie, la physiologie et les fonctions du tégument à la lumière des données de la littérature. On met l'accent sur la description des propriétés physiques du tégument : taux d'hydratation de la couche cornée, perte d'eau transépidermique, sébumétrie et élasticité cutanée, ainsi que sur l'influence du diabète sucré sur ces propriétés.

CONTRIBUTION PERSONNELLE

L'objectif principal a été constitué par la comparaison des propriétés physiques cutanées des patients diabétiques à celles des sujets non diabétiques, du même âge et sexe. Nous avons

effectué des mesures **du taux d'hydratation de la CC, de la fonction de barrière** (mesurée par la valeur TEWL), **de l'élasticité cutanée**, ainsi que de la **sébumétrie du tégument**.

Les objectifs secondaires de cet ouvrage ont été :

- La détermination de l'impact que le contrôle glycémique a sur ces propriétés physiques cutanées (en fonction de la valeur HbA1c et de la glycémie basale) ;
- L'association entre les modifications des propriétés physiques du tégument et la présence de certaines complications chroniques du diabète sucré (par exemple le taux d'hydratation et la neuropathie diabétique) ;
- L'évaluation de l'impact de l'insulinothérapie sur les propriétés physiques du tégument ;
- Les corrélations entre les propriétés physiques et autres variables, tel que : le sexe, l'âge, l'indice de masse corporelle, le type de diabète, le traitement antihyperglycémiant ainsi que les prédicteurs des propriétés physiques cutanées ;
- L'influence de l'âge sur les propriétés physiques cutanées ;
- Les modifications histologiques du tégument survenues dans le diabète sucré.

L'ouvrage se compose de 3 études : 2 études cliniques, observationnelles, transversales, une première étude de cohorte et une deuxième étude cas- témoin, ainsi qu'une étude expérimentale, réalisée sur des rats de race Wistar.

L'étude 1 : Modifications des propriétés physiques cutanées chez les patients souffrant de diabète sucré

L'étude 2 : Corrélations et prédicteurs du taux d'hydratation cutanée, de la perte d'eau transépidermique, de la sébumétrie et de l'élasticité cutanée

L'étude 3 : L'effet du diabète sucré sur le tégument chez le rat – étude expérimentale

L'étude 1: Modifications des propriétés physiques cutanées chez les patients souffrant de diabète sucré

L'objectif principal a été la comparaison des propriétés physiques cutanées (taux d'hydratation de la couche cornée, sébumétrie, élasticité, perte d'eau transépidermique) des patients diabétiques à celles des sujets non diabétiques, ayant le même âge et sexe.

Les objectifs secondaires de cette étude ont été : la détermination de l'impact que le contrôle glycémique a sur ces propriétés physiques cutanées (en fonction de la valeur HbA1c); l'association entre les modifications des propriétés physiques du tégument et la présence de certaines complications chroniques du diabète sucré (par exemple le taux d'hydratation et la neuropathie diabétique); l'évaluation de l'impact de l'insulinothérapie sur les propriétés physiques du tégument, l'influence de l'âge sur les propriétés physiques cutanées.

Matériel et méthode

L'étude a été menée sur 44 patients diagnostiqués avec diabète sucré de type 1 ou de type 2, ainsi que sur 41 sujets non diabétiques, ajustés par âge et par sexe. Pour réaliser des mesures cutométriques on a utilisé l'appareil Multi Probe Adapter Systems MPA® (produit par la société Courage-Khazaka, Allemagne), à l'aide de 4 sondes: Corneometer® CM 825 – pour la

détermination du taux d'hydratation de la CC; Tewameter® TM 300 – pour la détermination de la perte d'eau transépidermique; Sebumeter® SM 815 – pour la détermination de la quantité de sébum; Cutometer® MPA 580 – pour la détermination de l'élasticité du tégument. Le dispositif est connecté à un PC, chaque sonde ayant son propre programme d'affichage des données, compatible avec Windows. La mesure du taux d'hydratation de la CC a été effectuée en 3 points : la face interne de l'avant-bras gauche ; la face antérolatérale de la cuisse gauche et la face dorsale de la jambe gauche. La mesure du sébum cutané a été réalisée en 2 points : la face interne de l'avant-bras gauche et la jambe gauche. La mesure de la perte d'eau transépidermique a été effectuée en un seul point, au niveau de l'avant-bras gauche. La mesure de l'élasticité cutanée a été effectuée dans 4 points : la face dorsale de la main droite ; la face interne de l'avant-bras droit ; la face antérolatérale de la cuisse droite et l'angle de l'œil droit.

Résultats

Cette étude transversale, cas-témoin, a été menée sur 44 patients souffrant de diabète sucré et 41 témoins ajustés par âge et par sexe ($53,07 \pm 12,13$ vs. $52,24 \pm 2,97$ ans, $p=0,76$). Le lot d'étude a été composé par la plupart des femmes (68,18% vs. 31,82), tout comme le lot de contrôle (68,3% vs. 31,7%). La plupart des patients du groupe de contrôle ont eu des problèmes de surpoids ou d'obésité (71 %), pourtant dans le groupe des diabétiques de type 2 l'IMC a été bien plus grand, 86,8% de ceux-là étant obèses ou ayant des problèmes de surpoids. Dans le cadre du lot d'étude, il y a eu environ $\frac{3}{4}$ des cas de diabète sucré de type 2 (73,2%) et environ un quart des cas de diabète de type 1 (26,8%). Toutefois, 75,6% des patients ont été insulinotraités. Environ la moitié des patients du lot d'étude ont souffert de diabète sucré compliqué avec polyneuropathie diabétique. En ce qui concerne le **taux d'hydratation de la CC**, nous avons obtenu une signification statistique pour la baisse de l'hydratation de la CC dans certains points de mesure, dans les situations suivantes : a) chez les diabétiques par rapport aux témoins (au niveau de l'avant-bras $p=0,008$) ; b) chez les diabétiques insulinotraités par rapport aux diabétiques traités avec des antidiabétiques oraux (au niveau de la cuisse $p=0,04$) ; c) chez les diabétiques avec PNP par rapport aux malades sans PNP (au niveau de l'avant-bras $p=0,009$, au niveau de la cuisse $p=0,001$, et au niveau de la jambe $p=0,01$) ; e) chez les diabétiques ayant une valeur HbA1c plus grande ou égale à 6,5% par rapport aux témoins ($p=0,002$ au niveau de la main et de la jambe et $0,001$ au niveau de la cuisse). Le taux d'hydratation cutanée de la CC a été bien plus faible chez les diabétiques ayant moins de 50 ans par rapport aux témoins ayant le même âge, étant comparable à l'hydratation de la CC chez les témoins ayant plus de 50 ans. Il n'y a pas eu de signification statistique en ce qui concerne le taux d'hydratation de la CC lorsqu'on a comparé les diabétiques, les témoins aux diabétiques traités avec des ADO ou les témoins aux diabétiques sans PNP. **La sébumétrie cutanée** a été bien plus faible dans certains points de mesure, c'est-à-dire : a) chez les diabétiques traités avec insuline (autant du type 1 que du type 2 de diabète) par rapport aux témoins (au niveau de la jambe $p=0,043$) ; b) chez les diabétiques de type 1 par rapport aux témoins ($p=0,011$ au niveau de la jambe) ; c) chez les diabétiques avec PNP par rapport aux témoins ($p=0,046$ au niveau de l'avant-bras et $0,026$ au niveau de la jambe) ; d) les diabétiques ayant moins de 50 ans ont eu une valeur de la sébumétrie bien plus faible au niveau de la jambe ($p=0,04$) par rapport aux témoins ayant le même âge. Il n'y a pas eu de signification statistique en ce qui concerne la sébumétrie cutanée lorsqu'on a comparé le lot des témoins au lot des diabétiques en général, ou diabétiques de type 2 (avec ou sans insulinothérapie), ou ceux traités avec des ADO. Celle-ci n'a pas été trop différente ni chez

les diabétiques traités avec des ADO par rapport à ceux traités avec insuline, ou chez les diabétiques de type 1 par rapport à ceux de type 2, avec ou sans PNP, ou chez les témoins par rapport aux diabétiques, indifféremment du contrôle glycémique sur le terme moyen. La sébumétrie cutanée des diabétiques ayant moins de 50 ans a été comparable à celle des témoins ayant plus de 50 ans. **La perte d'eau transépidermique (TEWL)** au niveau de l'avant-bras n'a pas présenté de signification statistique entre les deux lots dans aucune situation. **L'élasticité cutanée** a été bien plus faible chez les témoins par rapport aux diabétiques de type 1 au niveau de la cuisse $p=0,001$ (probablement à cause de l'âge plus jeune) et chez les diabétiques ayant moins de 50 ans par rapport aux témoins ayant le même âge ($p=0,001$ au niveau de l'avant-bras). L'élasticité cutanée des diabétiques ayant plus de 50 ans a été comparable à celle des témoins de plus de 50 ans, mais les diabétiques de moins de 50 ans ont une élasticité cutanée bien meilleure par rapport aux diabétiques de plus de 50 ans.

Conclusions

Le diabète influence en particulier le taux d'hydratation de la CC et la sébumétrie cutanée, l'influence étant plus sévère lors de l'association avec PNP. TEWL n'est pas influencé par le diabète, et l'élasticité cutanée et la sébumétrie cutanée sont réduites chez les diabétiques ayant moins de 50 ans par rapport aux témoins ayant le même âge. La baisse du taux d'hydratation de la CC, sans modification de TEWL est une modification des propriétés physiques cutanées qui survient en même temps que l'avancement en âge et qui est observée chez les diabétiques vs. témoins.

L'étude 2 : Corrélations et prédicteurs du taux d'hydratation cutanée, de la perte d'eau transépidermique, de la sébumétrie et de l'élasticité cutanée

L'objectif principal a été de trouver les corrélations et les prédicteurs du degré d'hydratation cutanée de la CC, de la perte d'eau transépidermique, de la sébumétrie et de l'élasticité cutanée. Dans ce sens nous avons mené une étude transversale, de cohorte.

Matériel et méthode

L'étude a été menée sur 57 patients diagnostiqués avec diabète sucré de type 1 ou de type 2, ainsi que sur 46 sujets sans diabète. La participation a été volontaire, avec la signature du Formulaire de Consentement Éclairé avant d'effectuer toute procédure. Pour effectuer des mesures cutométriques on a utilisé l'appareil Multi Probe Adapter Systems MPA ® (produit de la compagnie Courage – Khazaka, Allemagne), à l'aide de 4 sondes: Corneometer ® CM 825 – pour la détermination du taux d'hydratation cutanée; Tewameter ® TM 300 – pour la détermination de la perte d'eau transépidermique; Sebumeter ® SM 815 – pour la détermination de la quantité de sébum; Cutometer ® MPA 580 – pour la détermination de l'élasticité du tégument. Le dispositif est connecté à un PC, chaque sonde ayant son propre programme d'affichage des données, compatible avec Windows. La détermination du taux d'hydratation de la couche cornée a été effectuée en 3 points : la face interne de l'avant-bras gauche, la face antérolatérale de la cuisse gauche et la face dorsale de la jambe gauche. La mesure du sébum cutané a été réalisée en 2 points : la face interne de l'avant-bras gauche et la jambe gauche. La détermination de la perte d'eau transépidermique a été effectuée dans un seul point, au niveau de

l'avant-bras gauche. La détermination de l'élasticité cutanée a été effectuée en 4 points : face dorsale de la main droite ; face interne de l'avant – bras droit ; face antérolatérale de la cuisse droite et l'angle de l'œil droit.

Résultats

La polyneuropathie diabétique a été la complication chronique associée au diabète chez 54,38% des patients inclus dans l'étude, présente chez 64,3% des diabétiques de type 1 et 51,16% des diabétiques de type 2. **Le taux d'hydratation cutanée de la CC** chez les diabétiques a été corrélé de manière significative avec la présence de la PNP ($p < 0,001$). Si nous avons analysé à la totalité du lot des participants à l'étude, la hauteur ($p=0,027$ au niveau de l'avant-bras, $p < 0,001$ au niveau de la main et de la jambe), le poids ($p=0,04$ au niveau de la cuisse) et le sexe semblent être corrélés avec le taux d'hydratation de la CC dans certains points de mesure, tandis que les femmes semblent présenter une baisse du contenu d'eau de la CC, par rapport aux hommes ($p=0,003$ au niveau de l'avant-bras, $0,004$ au niveau de la cuisse et $p < 0,001$ au niveau de la jambe). La présence du diabète sucré s'associe à la baisse significative du taux d'hydratation au niveau de l'avant-bras ($p=0,005$), mais si on procède à la correction pour la présence de la neuropathie, il semble que cette corrélation disparaît. En échange, la polyneuropathie diabétique reste définitivement associée à la baisse du taux d'hydratation cutanée dans tous les points de mesure ($p < 0,001$). **La sébumétrie cutanée** a été corrélée de manière significative, au sein du lot des diabétiques, avec la présence de la PNP ($p=0,018$ au niveau de la jambe) ; les femmes, avec ou sans diabète, ont eu une sébumétrie bien plus réduite que les hommes, dans les deux points de mesure ($p < 0,05$). Si nous avons analysé la totalité du lot des participants à l'étude, la hauteur, le poids et le TEWL semblent être corrélés de manière significative avec la sébumétrie cutanée. En ce qui concerne les prédicteurs, au niveau du lot entier, mais également au niveau du lot des diabétiques, la sébumétrie est corrélée avec le sexe, les hommes ayant des valeurs bien plus élevées que les femmes ($p < 0,05$). Au niveau de la jambe, la sébumétrie s'associe de manière négative avec la présence de la PNP, mais elle n'est pas influencée par le diabète. Si on fait l'ajustement par âge et par sexe, les associations disparaissent, mais dans le cadre du lot des diabétiques il apparaît l'association avec le type de traitement, puisque les diabétiques insulinotraités ont une valeur de la sébumétrie plus faible que les diabétiques traités avec des ADO ($p=0,02$). **La perte d'eau transépidermique (TEWL)**, chez les patients diabétiques, est corrélée avec l'élasticité et le sexe, les hommes ayant une perte d'eau transépidermique plus importante que les femmes. Le prédicteur significatif du point de vue statistique de la perte d'eau transépidermique élevée au niveau de l'avant-bras a été le sexe masculin ($p=0,006$). **L'élasticité cutanée** présente une corrélation significative du point de vue statistique chez les patients diabétiques avec l'âge ($p \leq 0,006$ au niveau de la main, de l'avant-bras et de la cuisse), la sébumétrie ($p=0,032$ au niveau de la main), le TEWL ($p < 0,05$ au niveau de l'avant-bras), le type de traitement ($p=0,025$ au niveau de la cuisse) ou le type de diabète ($p < 0,03$ au niveau de la cuisse et de l'avant-bras). Le prédicteur significatif du point de vue statistique d'une élasticité réduite dans tous les points de mesure (à l'exception de l'angle de l'oeil) a été

l'avancement en âge ($p < 0,001$). Le type 2 de diabète semble être prédicteur en ce qui concerne l'élasticité cutanée réduite au niveau de la cuisse ($p < 0,001$).

Conclusions

C'est plutôt la présence de la PNP, que le diabète lui-même, qui semble conduire à l'altération de l'hydratation de la CC chez les patients diabétiques. Le sexe féminin, grâce à la constellation hormonale différente, semble avoir une production de sébum réduite, ce qui influence le taux d'hydratation de la CC et TEWL est plus faible. La baisse de l'élasticité du tégument au niveau de la cuisse s'associe avec le diabète de type 2.

L'étude 3 : L'effet du diabète sucré sur le tégument chez le rat – étude expérimentale

L'objectif principal a été d'observer si le diabète sucré induit par STZ, après 10 semaines d'évolution, influence la structure histologique et l'histométrie du tégument chez le rat.

Matériel et méthode

Pour cette étude nous avons utilisé 35 rats adultes de race Wistar. Le diabète sucré a été induit chez une partie des rats par l'administration d'une seule injection de STZ (dissous dans du sérum physiologique), dans une dose de 25 mg/kg de poids corporel. Trois jours, respectivement une semaine après l'injection, on a mesuré la glycémie capillaire à l'aide du glucomètre, considérant le rat comme diabétique lorsque sa glycémie était à plus de 250 mg/ dl. Pour survivre, les rats diabétiques ont été sous-insulinisés – on leur a administré de l'insuline à longue durée d'action (Lantus, Sanofi-Aventis) tous les 2-3 jours, en fonction de la valeur de la glycémie matinale, de manière à ce qu'il ne survient pas la cétoacidose et le décès et afin de maintenir le statut hyperglycémique. On a mesuré 26 glycémies pour chaque rat du lot étudié. Le lot témoin a été composé de rats chez lesquels on n'a pas administré de STZ. Sur la durée de l'étude on a assuré la nourriture et l'eau *ad libitum* ; on a assuré le rythme de sommeil - veille (12 h de lumière et 12 h de noir) ; la mesure de la diurèse a été effectuée à l'aide des cages métaboliques ; sur l'intégralité de la durée de l'expérience on a respecté les normes de la Convention Européenne sur la protection des animaux vertébrés utilisés à des fins expérimentales (Strasbourg, 1986). Dix semaines après l'induction du diabète, les rats ont été sacrifiés (6 rats du lot témoin et 12 rats diabétiques) et on a prélevé des biopsies cutanées au niveau de la nuque. Les colorations suivantes ont été utilisées pour l'examen histopathologique : Hématoxyline – Eosine (H&E), une coloration qui permet une bonne différenciation des types cellulaires et Trichrome – Masson (T&M), qui permet l'observation, de manière sélective du point de vue chromatique, des fibres musculaires, des éléments cellulaires et des fibres de collagène en particulier. L'image microscopique a été obtenue à l'aide du microscope Olympus BX 5. Le prélèvement des images a été effectué à l'aide d'une caméra numérique Olympus SP 350. Le programme utilisé pour le traitement des données obtenues a été « Cell B soft ». Pour l'analyse statistique, on a utilisé » SPSS v 17.0 et le module Data Analysis de Microsoft Excel. Pour la description des variables numériques on a utilisé la moyenne et la déviation standard, et pour le calcul de la signification statistique on a utilisé le test T , en considérant comme significatif du point de vue statistique un $p < 0,05$.

Résultats

Le taux de succès de l'induction du diabète chez le rat par l'injection de 25 mg de STZ / kg de poids corporel a été de plus de 90% (27 cas de diabète parmi 29 rats injectés), mais le taux de décès durant les 10 semaines de l'étude a été de 55%, même si on a administré l'insulinothérapie (toutefois, les rats ont été sous-insulinisés, afin que la glycémie basale ne diminue pas en dessous de 250 mg/l), en se situant à 44% des cas à la fin de l'étude. Les rats diabétiques ont perdu du poids de manière significative durant les 10 semaines de l'étude, autant par rapport aux témoins ($p=0,04$), que par rapport à leur propre poids initial ($p<0,001$). Les rats diabétiques ont également présenté une hyperglycémie et une polyurie augmentées de manière significative par rapport aux rats témoins ($p<0,001$). Du point de vue histologique, par rapport au lot témoin, chez le lot diabétique on a observé une atrophie de l'épiderme par la réduction du nombre de cellules, en particulier celles de la couche épineuse, y ayant aussi une différence de kératinisation entre les deux lots, le processus de kératinisation étant beaucoup plus intense chez le lot diabétique. On a remarqué une dégénération hydropique des cellules épineuses chez certains individus du lot diabétique. Histologiquement, il n'y a pas eu de modifications des glandes sébacées ou au niveau des follicules pileux. Du point de vue histométrique, l'épaisseur de la CC chez le rat diabétique est réduite de manière significative par rapport à celle du rat sain ($p<0,001$).

Conclusions

Le diabète sucré détermine, au fil du temps, la réduction de l'épithélium chez les rats, surtout par la réduction de la couche épineuse. On remarque un processus de kératinisation plus intense chez les rats, sans modifications au niveau des glandes sébacées ou des follicules pileux.

CONCLUSIONS FINALES

A la lumière des résultats obtenus dans le cadre des 3 études développées, on peut formuler les conclusions suivantes: dans le cadre de nos études, plus de la moitié des patients ont souffert de PNP et plus de 2/3 des patients ont été insulinotraités. L'effet du diabète et ses complications sur le tégument pourraient être caractérisés ainsi : **le vieillissement prématuré de la couche cornée**, par la baisse de l'hydratation de la CC et de la sébumétrie dans certains points, avec conservation de TEWL. **L'hydratation de la CC** est réduite, au moins dans certaines régions, à cause de la présence du diabète, mais si elle est associée avec la PNP ces modifications sont plus sévères. **La fonction de barrière**, quantifiée par la valeur TEWL, est conservée. La baisse de l'hydratation de la CC en conservant TEWL est une des modifications caractéristiques du vieillissement. En outre, les diabétiques ayant moins de 50 ans ont des valeurs bien plus faibles du taux d'hydratation de la CC par rapport aux témoins jeunes, mais les valeurs sont comparables aux valeurs des témoins âgés de plus de 50 ans. **La sébumétrie cutanée** est bien plus élevée chez les hommes, autant témoins, que diabétiques. Ces résultats sont probablement dus à la constellation hormonale. La sécrétion de sébum est influencée, au moins dans certains points, par la présence du diabète, de la PNP et de l'insulinothérapie. **L'élasticité cutanée** est une propriété physique du tégument qui est étroitement corrélée avec l'âge, quoiqu'il s'agisse du lot des diabétiques ou du lot des témoins. La présence du diabète de type 2 semble être un prédicteur en ce qui concerne la baisse significative de l'élasticité cutanée mesurée au niveau de la cuisse, après avoir effectué l'ajustement par âge, par sexe ou l'insulinothérapie,

probablement grâce à la présence des produits de glycation avancée. **L'histologie du tégument** soumis à l'action de l'hyperglycémie et de la sous-insulinisation chez les rats, sur la durée de 10 semaines, montre l'affinement significatif de la CC, en particulier par la réduction de l'épaisseur de la couche épineuse, sans modification de l'aspect des glandes sébacées. L'hyper kératinisation de la CC apparaît chez les rats diabétiques. **L'histométrie cutanée** montre que les rats diabétiques présentent l'affinement de la CC par rapport aux témoins. En conclusion, les diabétiques présentent des modifications des propriétés physiques du tégument, la présence de la PNP augmentant la sévérité de celles-ci, dans le sens du vieillissement prématuré de la CC.