



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE “CAROL DAVILA” BUCUREȘTI

TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

**REDEFINIREA SINDROMULUI METABOLIC LA GRAVIDĂ – STUDIUL
COMPLICAȚIILOR METABOLICE MATERNO-FETALE INDUSE DE
OBEZITATEA MATERNĂ ÎN PERIOADA SARCINII**

Conducător de doctorat:

Prof. Univ. Maria Mohora

Doctorand:

Dr. Diana-Elena Comandașu

BUCUREȘTI

2019

CUPRINS

INTRODUCERE.....	1
PARTEA I – ASPECTE TEORETICE.....	5
CAPITOLUL 1. IMPLICAREA INFLAMAȚIEI ÎN SINDROMUL METABOLIC ȘI OBEZITATEA GESTAȚIONALĂ.....	6
1.1.Definiția sindromului metabolic în sarcină.....	6
1.2.Particularitățile sindromului metabolic în sarcină.....	7
1.3.Definiția și clasificarea obezității în sarcină.....	8
1.4.Epidemiologia obezității și sindromului metabolic în sarcină.....	11
1.5.Fiziopatologia obezității și sindromului metabolic în sarcină.....	12
1.5.1. Modificările adaptative ale metabolismului glucido-lipidic în sarcină.....	14
1.5.2. Influența obezității și sindromului metabolic asupra funcției placentare.....	17
1.5.3. Complicațiile materno-fetale asociate obezității și sindromului metabolic.....	19
1.5.4.Riscurile fetale pe termen lung.....	32
1.6.Inflamația asociată obezității și sindromului metabolic în sarcină.....	37
1.7.Rolul stresului oxidativ în obezitatea gestațională și sindrom metabolic.....	42
CAPITOLUL 2. ADIPOKINELE - SISTEM DE CONTROL ENERGETIC.....	45
2.1.Homeostazia țesutului adipos.....	45
2.1.1.Fiziopatologia țesutului adipos.....	47
2.1.2.Adipogeneza în perioada intrauterină.....	48
2.1.3.Adipogeneza în perioada adultă.....	48
2.1.4.Caracteristile adipozității viscerale.....	49
2.2.Rezistența dobândită la insulină.....	50
2.3.Funcția endocrină a țesutului adipos.....	52
2.3.1.Adipokine cu funcție hormonală.....	54
2.3.2.Citokine proinflamatorii.....	57
2.4.Rolul adipokinelor în sarcină la femeile obeze.....	59
2.4.1.Rezistența la leptină în obezitate.....	62
2.4.2.Deficitul de adiponectină în obezitate.....	62
2.4.3. Rezistina.....	63
CAPITOLUL 3.OBEZITATEA ȘI PROGRAMAREA METABOLICĂ FETALĂ.....	65
3.1.Conceptul de programare epigenetică – Ipoteza Barker.....	65
3.2.Programarea și imprimarea metabolică intrauterină.....	67
3.3.Procesul de reprogramare intrauterină.....	68
CAPITOLUL 4. MODULAREA EFECTELOR OBEZITĂȚII MATERNE PRIN INTERVENȚII NUTRIȚIONALE.....	71
4.1.Acizii grași polinesaturați Omega 3.....	71
4.2.Acizii grași polinesaturați Omega 6.....	73
4.3.Fructele de cătină.....	74
4.4.Dieta normocalorică normolipidică.....	76

PARTEA A II-A – CONTRIBUȚII PERSONALE.....	77
MOTIVAȚIA ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII.....	78

CAPITOLUL 5. MATERIALE ȘI METODE.....	85
5.1.Descrierea studiului experimental pe animale de laborator.....	85
5.2.Doizarea parametrilor biochimici plasmatici.....	89
5.2.1. Dozarea glicemiei.....	90
5.2.2. Dozarea trigliceridelor serice.....	90
5.2.3. Dozarea acidului uric seric.....	91
5.2.4. Dozarea albuminei serice.....	92
5.2.5. Dozarea colesterolului seric.....	92
5.2.6. Dozarea HDL-colesterolului.....	93
5.2.7. Dozarea alanin aminotransferazei (ALT).....	93
5.2.8. Dozarea aspartat aminotransferazei (AST).....	94
5.2.9. Dozarea ureei serice.....	94
5.2.10. Dozarea proteinelor totale.....	95
5.2.11. Dozarea γ glutamil transferazei (GGT).....	95
5.3. Dozarea parametrilor de stres oxidativ.....	96
5.3.1. Dozarea parametrilor de stres oxidativ sistemici.....	96
5.3.1.1. Dozarea nivelului glutatationului circulant (GSH+GSSG).....	96
5.3.1.2. Dozarea superoxid-dismutazei (SOD) eritrocitare.....	97
5.3.1.3. Dozarea glutatation-peroxidazei (GPx) eritrocitare.....	98
5.3.2. Dozarea parametrilor de stres oxidativ tisulari.....	99
5.3.2.1.Dozarea nivelului MDA tisular.....	99
5.3.2.2. Dozarea nivelului GSH tisular.....	100
5.3.2.3. Dozarea nivelului tilolilor totali tisulari.....	100
5.4. Dozarea markerilor adipocitari sistemici.....	101
5.4.1. Dozarea nivelului de adiponectină serică.....	101
5.4.2. Dozarea nivelului de rezistină serică.....	103
5.5.Analiza histopatologică a organelor materne și fetale.....	103
5.6. Analiza statistică a datelor.....	104

CAPITOLUL 6. REZULTATE.....	105
6.1. Efectul intervențiilor nutriționale asupra parametrilor biochimici plasmatici...105	105
6.2. Efectul intervențiilor nutriționale asupra parametrilor de stres oxidativ.....115	115
6.2.1. Efectul intervențiilor nutriționale asupra parametrilor de stres oxidativ sistemici.....115	115
6.2.1.1. Efectul intervențiilor nutriționale asupra nivelului superoxid-dismutazei (SOD) eritrocitare.....116	116
6.2.1.2. Efectul intervențiilor nutriționale asupra nivelului glutatation-peroxidazei (GPx) eritrocitare.....120	120
6.2.2. Efectul intervențiilor nutriționale asupra parametrilor de stres oxidativ tisulari.....123	123
6.2.2.1. Efectul intervențiilor nutriționale asupra nivelului malonil-dialdehidei (MDA) tisular.....125	125
6.2.2.2. Efectul intervențiilor nutriționale asupra nivelului glutatationului total	

tisular.....	128
6.2.2.3. Efectul intervențiilor nutriționale asupra nivelului tiolilor totali tisulari.....	131
6.3. Efectul intervențiilor nutriționale asupra markerilor adipocitari sistemici.....	133
6.3.1. Efectul intervențiilor nutriționale asupra nivelului de adiponectină serică.....	134
6.3.2. Efectul intervențiilor nutriționale asupra nivelului de rezistină serică.....	136
6.4. Efectul intervențiilor nutriționale asupra structurii histologice a organelor materno-fetale.....	138
6.4.1. Efectul intervențiilor nutriționale asupra structurii histologice a placentei.....	139
6.4.2. Efectul intervențiilor nutriționale asupra structurii histologice a ficatului.....	141
6.4.3. Efectul intervențiilor nutriționale asupra structurii histologice a pancreasului.....	149
6.4.4. Efectul intervențiilor nutriționale asupra structurii histologice a creierului....	154
6.4.5. Analiza modificărilor histologice induse de intervențiile nutriționale.....	158
 CAPITOLUL 7. DISCUȚII.....	167
 CAPITOLUL 8. CONCLUZII.....	170
 BIBLIOGRAFIE.....	179

INTRODUCERE

Obezitatea reprezintă la momentul actual o entitate patologică de larg interes datorită impactului socio-economic pregnant, care este însă incomplet elucidată încă, deși din ce în ce mai profund cercetată. Obezitatea maternă pe perioada gestației generează riscurile metabolice, incluzând apariția unei stări de inflamație și peroxidare lipidică care se concretizează prin dezechilibru hormonal. De asemenea, obezitatea maternă cauzează consecințe pe termen lung asupra descendenților, prin intermediul procesului de programare a metabolismului fetal, care apare în timpul vieții timpurii, cu impact fiziopatologic important asupra dezvoltării și stării de sănătate ulterioare. Incidența obezității la diagnosticarea sarcinii a cunoscut o creștere exponențială în ultimii 25 ani. Prevalența obezității în primul trimestru de sarcină s-a dublat între 1989 și 2007 și continuă să crească, în timp ce prevalența obezității materne a fost raportată între 9-10% și 16-19% în diferite studii (Heslehurst și colab., 2010).

Sindromul metabolic definește o asociere de semne incluzând obezitatea abdominală, creșterea nivelului trigliceridelor serice, scăderea nivelului HDL-colesterolului, hipertensiunea arterială și apariția rezistenței la insulină. Actual aproximativ o treime din populația adultă la nivel global este diagnosticată cu sindrom metabolic. Deși nu există dubii cu privire la frecvența crescută a semnelor definitorii pentru sindromul metabolic, există numeroase controverse există asupra definiției, patogenezei sau utilității clinice a acestuia ca entitate patologică. Fiziologia comparativă descrie sindromul metabolic similar procesului biologic prin care animalele stochează grăsime în anticiparea perioadelor de deficit alimentar. Obezitatea la specia umană este probabil o consecință a predispoziției genetice în conjuncție cu factorii de mediu.

Eskil Kylin a remarcat încă din 1923 faptul că pacienții obezi nu au în mod obișnuit niveluri crescute ale glucozei, tensiunii arteriale sau uricemiei (Kylin, 1932). Studii ulterioare au descris o asociere de semne, incluzând obezitatea, intoleranța la glucoză, hipertrigliceridemia și hiperuricemia la subiecți cu risc de apariție a diabetului (Herman și colab., 1982; Phillips și colab., 1977). Ulterior Reaven a definit o grupare de semne pe care le-a numit sindromul X și a sugerat rezistența la insulină ca mecanism fiziopatologic comun (Reaven, 1988). Există însă numeroase controverse cu privire la utilizarea termenului de sindrom metabolic (Brietzsche, 2007). Deși asocierea frecventă a criteriilor acestuia nu este pusă la îndoială, conceptul de rezistență la insulină ca mecanism fiziopatologic principal a fost contestat (Kahn, 2005). Au fost descrise de

asemenea, alte entități patologice frecvent asociate cu sindromul metabolic, dar care nu sunt incluse în definiție, cum ar fi: ficatul gras, microalbuminuria, sindromul de apnee în somn, hiperuricemia, inflamația, pierderea masei musculare și osoase, stresul oxidativ și disfuncția endotelială. Concluzia a fost că până la o mai bună înțelegerea a etiologiei sindromului metabolic, entitatea rămâne controversată (Brietzke, 2007). De asemenea s-a emis ipoteza că sindromul metabolic are multe asemănări cu procesele biologice fiziologice prin care animalele depozitează grăsime în anticiparea perioadelor de post alimentar. Cea mai importantă diferență este reprezentată de faptul că oamenii cu sindrom metabolic continuă să stocheze grăsimi. Ca atare, s-a propus redenumirea sindromului metabolic ca și "sindrom de depozitare a grăsimilor" pentru a caracteriza mai bine fiziopatologia acestuia.

Obezitatea gestațională reprezintă unul dintre cei mai frecvenți factori de risc obstetricali, instalarea sa precoce având un impact mare asupra fătului prin creșterea riscului de malformații cardiace, malformații ale tubului neural, omfalocel sau alterări metabolice pe termen lung (Cottrell și colab, 2008). Conceptul tradițional conform căruia țesutul adipos este un organ inert cu funcție unică de stocare a energiei în exces a fost abandonată în 1987, când a fost descris metabolismul hormonilor steroidieni sexuali la nivelul țesutului adipos și producția de adipină, o proteină secretată de adipocite, care suferă procesul de down-reglare la rozătoarele obeze. Se cunoaște la acest moment că adipocitele sunt de asemenea, organe endocrine, cu roluri metabolice multiple în homeostazie. Adipocitele de mici dimensiuni prezente la indivizii normoponderali promovează homeostazia metabolică, în timp ce adipocitele hipertrofiate ale pacienților obezi recrutează macrofage în exces și promovează inflamația, eliberând o serie de citokine care cauzează rezistență la insulină. În 1994, a fost descoperită leptina ca prima adipokină descrisă. În prezent, sunt cunoscute câteva sute de adipocitokine care conferă țesutului adipos funcții autocrine, paracrine și endocrine. Legătura fiziopatologică dintre obezitate și inflamație pare a fi reprezentată tocmai de citokinele proinflamatorii secretate de adipocite (Hotamisligil, 2003). Secreția continuă de adipokine și chemokine proinflamatorii cauzează o stare cronică subinflamatoare numită metainflamație (Barker, 1990). Metainflamația specifică obezității a fost catalogată drept principalul factor de risc metabolic pentru disfuncția endotelială (Weaver și colab., 2009). Aceasta este cauzată de stresul oxidativ generat de adipokinele proinflamatorii (TNF, IL-6, IFN γ , MCP-1) și lipotoxicitatea mediată de nivelurile ridicate de acizi grași liberi (AGL) (Breier și colab., 2001).

CONTRIBUȚII PERSONALE

MOTIVAȚIA ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII

Obezitatea a primit calificativul de “pandemie a secolului XXI”, atât incidența, cât și prevalența sa cunoscând un trend ascendent. Organizația Mondială a Sănătății a definit obezitatea ca fiind „una dintre cele mai ostentative, și totuși neglijate probleme de sănătate publică, care amenință să copleșească atât țările dezvoltate cât și pe cele în curs de dezvoltare” (WHO, 2006). În 2014 se estima prezența a mai mult de 1,9 miliarde de persoane supraponderale, și respectiv 600 de milioane obeze. Studiile predicționează pentru 2030 un număr impresionant de 2,16 miliarde de supraponderali, respectiv 1,12 miliarde obezi. Costul serviciilor de sănătate asociate obezității și comorbidităților acesteia a fost estimat în 2008 ca fiind aproape 150 de miliarde de dolari la nivel global (WHO, 2006).

Definirea și clasificarea obezității gestaționale reprezintă o provocare, întrucât clasificarea conform indicelui de masă corporală nu se poate aplica femeilor însărcinate, singurul instrument de cuantificare în sarcină fiind câștigul ponderal matern. Recomandările actuale pentru excesul ponderal în perioada sarcinii sunt între 5 și 9,1 kilograme la sarcinile unice și respectiv între 11 și 19 kilograme la sarcinie gemelare sau multiple la femeile normoponderale, în timp ce pentru cele obeze sau supraponderale de maxim 6,8 până la 11,3 kilograme (Rasmussen și colab., 2009). Colegiul American al Obstetricilor și Ginecologilor a afirmat că nu este utilă clasificarea obezității materne în sarcină, deoarece obezitatea generează aceleași riscuri materno-fetale, indiferent de nivelul excesului de greutate (ACOG, 2013).

Sindromul metabolic poate fi considerat o complicație a obezității sau o comorbiditate. Se presupune că la nivel mondial o treime dintre adulți suferă de sindrom metabolic, reprezentând un motiv de îngrijorare pentru sistemele de sănătate publică. Diagnosticul de sindrom metabolic nu se poate efectua utilizând aceleași criterii clinico-biologice în cazul femeii gravide, cu toate că alterarea metabolică este similară ca la femeia negravidă. Această observație face ca sindromul metabolic să fie o afectare dificil de diagnosticat cert în perioada sarcinii, fiind mai degrabă o patologie la care suspiciunea clinică primează. Gravida cu sindrom metabolic face parte dintr-o categorie de risc înalt, fiind utilă consilierea multidisciplinară între obstetrician, nutriționist, internist, diabetolog, cardiolog, medic de familie pentru a elabora planul terapeutic optim în vederea evoluției normale a sarcinii.

Asocierea dintre obezitatea gestațională, sindromul metabolic și sănătatea materno-fetală rămâne încă o enigmă, mecanismele de legătura între mediul obezogenic matern și consecințele pe termen scurt și lung fiind complexe și parțial necunoscute. Abordarea terapeutică a obezității și sindromului metabolic vizează în primul rând modificarea stilului de viață, prin promovarea unei diete normocalorice bogată în nutrienți și a exercițiului fizic regulat. Suplimentele alimentare în terapia obezității sunt considerate doar adjuvante ale măsurilor comportamentale și dietetice. În cazurile cu exces adipos minim se consideră că nu sunt necesare, iar la pacienții cu obezitate morbidă s-au dovedit inefficiente. Obiectivul general al lucrării prezente este de a determina, prin intermediul unui studiu experimental realizat pe animale de laborator, utilitatea intervențiilor dietetice și suplimentelor alimentare în reducerea efectelor adverse materno-fetale asociate obezității pe perioada sarcinii. Complicațiile materne și fetale cauzate de obezitate au fost studiate din perspectiva imediată – greutate la naștere, adaptare la viața extrauterină, markeri biochimici plasmatici, indici de inflamație și peroxidare, nivel de adipokine, aspectul histologic al organelor materne și fetale, și respectiv pe termen lung – obezitate în viața adultă a puilor, durata de viață, nivel activitate fizică, transmiterea alterărilor la următoarea generație prin repetarea experimentului și urmărirea gestației puilor de sex feminin. Ca și terapii intervenționale țintite către reversarea efectelor adverse ale obezității gestaționale și sindromului metabolic am ales suplimentarea cu acizii grași Omega 3, acizi grași Omega 6 și fructe de cătină și respectiv dieta normocalorică, normolipidică, raportându-ne ca lot control la un grup de femele care au continuat dieta grasă.

Alegerea suplimentelor a avut la bază caracterele comune ale acestora, toate având implicații, descrise pe larg în literatură, în cascada inflamatorie și peroxidarea lipidică. A fost luată în considerare și utilizarea pe scară largă a acestor suplimente de către subiecții umani, având în vedere popularitatea acestora și disponibilitatea crescută. Cercetarea a avut ca scop principal optimizarea terapiei obezității gestaționale și a complicațiilor acesteia precum inflamația placentară cu implicații fetale, hepatopatia, alterarea funcției pancreatice, dislipidemia, statusul inflamator sistemic. Considerând faptul că suplimentele alese pentru cercetare pot genera efecte benefice sau adverse asupra organelor țintă precum placenta, ficatul, pancreasul sau creierul, lucrarea prezintă dorește să identifice intervenția nutrițională optimă, care prin intermediul efectelor de reglare hormonală, antiinflamatorii și antioxidante să genereze un prognostic materno-fetal bun asociat sarcinilor complicate cu obezitate, prin evitarea apariției

complicațiilor specifice. Cercetarea și-a dorit identificarea terapiei cu efect optim asupra evoluției sarcinii, prin comparația efectelor intervențiilor nutriționale descrise, atât la nivel matern, cât și fetal, din perspectivă sistemică și tisulară, propunându-și să răspundă la o serie de întrebări prin intermediul rezultatelor experimentale obținute:

- Sunt terapiile intervenționale nutriționale eficiente pentru evitarea apariției complicațiilor materno-fetale în sarcinile complicate de obezitate maternă?
- Se pot preveni alterările tisulare și organice cauzate de obezitatea gestațională și sindromul metabolic prin intermediul terapiilor nutriționale?
- Care țesut sau organ matern și fetal răspunde optim la terapiile nutriționale? Și care dintre acestea este caracteristic eficientă într-un anumit țesut?
- Care dintre terapiile intervenționale nutriționale cercetate intervine în lanțul fizipatologic cauzat de obezitatea maternă și sindromul metabolic, determinând reducerea rezistenței periferice la insulină, stresului oxidativ sau inflamației?
- Care dintre aceste terapii nutriționale intervine cel mai eficient în reversarea complicațiilor materno-fetale?
- Au terapiile nutriționale capacitatea de a limita efectele programării epigenetice cu efecte pe termen lung asupra descendenților?
- Pot intervențiile terapeutice analizate să genereze un efect de reprogramare metabolică intrauterină a fetoilor proveniți din sarcini cu mame obeze?

Primul scop al cercetării experimentale a fost **identificarea consecințelor expunerii la obezitatea indusă prin dietă hipercalorică, hiperlipidică asupra femelelor gravide de șobolani Wistar**, și respectiv puilor acestora. Animalele de laborator au fost supuse unei diete obezogene, până la inducerea obezității, după care au fost împerecheate și studiate pe parcursul gestației: grupul 1 a primit suplimente cu acizi grași Omega 3, grupul 2 acizi grași Omega 6, Grupul 3 fructe de cătină, iar grupul 4 a reprezentat lotul control, continuând alimentația hipercalorică pe perioada gestației și alăptării. Pentru determinarea consecințelor adverse sistemice și tisulare ale obezității materne s-a analizat dinamica concentrațiilor markerilor biochimici uzuali, nivelul adipokinelor și statusul inflamator.

Al doilea scop al studiului experimental a fost reprezentat de **evaluarea proprietăților terapeutice ale suplimentelor** utilizate, prin analiza efectelor antiinflamatorii, antioxidante,

hipoglicemiant și hipolipemiant ale acizilor grași Omega 3, acizilor grași Omega 6 și respectiv fructelor de cătină, administrate la femele de șobolani Wistar supuse unei diete obezogene și la descendenții acestora. Aceste proprietăți cercetate au evaluat potențialul lor de prevenție în ceea ce privește complicațiile metabolice materno-fetale asociate obezității gestaționale.

Al treilea scop a constat în **analiza histologică a placentei și organelor materne și fetale**, fiind menită să genereze rezultate concordante cu cele confirmate în urma dozării markerilor bichimici, de inflamație și peroxidare din omogenate tisulare. Studiul alterărilor morfo-patologice ale organelor implicate activ în metabolismul energetic, induse de obezitatea experimentală a generat particularități la nivelul țesutului placentar, hepatic, pancreatic și cerebral. Aceste patologii microscopice sunt responsabile de funcționarea defectuoasă a organelor și cauzează consecințe metabolice, inflamatorii și endocrine.

Al patrulea scop al studiului prezent s-a concentrat pe **elaborarea unei definiții cu aplicabilitate clinică a sindromului metabolic în sarcină**, cunoscând faptul că aceasta nu are în prezent criterii de diagnostic și o definiție certă atribuite perioadei de gestație, cum există în cazul altor patologii cu implicare metabolică precum hipertensiunea arterială și diabetul zaharat. Sindromul metabolic reprezintă o asociere de entități patologice cu etiopatogenie comună, care este de cele mai multe ori exacerbat de modificările fiziologice specifice sarcinii. Diagnosticarea sa în practica clinică poate să identifice acea categorie de gravide supusă riscului metabolic major pe perioada gestației și ulterior. Deoarece consecințele sale au răsunet atât matern, cât și fetal prin complicațiile generate pe termen scurt și lung, intervenția terapeutică trebuie să fie promptă.

Ultimul scop al cercetării experimentale a fost reprezentat de **confirmarea existenței mecansimului de reprogramare genetică**, prin supunerea descendenților de sex feminin proveniți din mame obeze unei sarcini și respectiv acelorași terapii intervenționale. Practic a fost repetat experimentul utilizând femelele obținute ca pui la primul ciclu, acestea fiind sub influența programării metabolice epigenetice cauzate de obezitatea prezentă la mamele lor. Au fost analizați indici biochimici, inflamatori, ai peroxidării, sistemici și tisulari, adipokine, împreună cu structura histologică a oganelor de interes. Rezultatele au fost ulterior comparate cu cele obținute în cadrul primului experiment.

MATERIALE ȘI METODE

Descrierea studiului experimental pe animale de laborator

Consecințele obezității materne pe perioada gestației au fost cercetate pe un model animal, utilizând 65 de șobolani Wistar de sex feminin, în vârstă de trei săptămâni. Animalele de laborator au fost puse la dispoziție și crescute în Biobaza Universității de Medicină și Farmacie "Carol Davila", sub supravegherea strictă a personalului specializat al Universității, având la dispoziție apă și alimente. Condițiile de mediu au fost strict controlate pentru a menține o umiditate de $50 \pm 10\%$ și respectiv o temperatură ambientală de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Experimentele la care animalele au fost supuse s-au desfășurat în acord strict cu recomandările stipulate în Directiva 86/609/EEC/24.11.1986, referitoare la protecția animalelor de laborator utilizate în scop științific sau experimental și Ghidul U.M.F. "Carol Davila" pentru îngrijirea și utilizarea animalelor de laborator. Studiul s-a desfășurat sub aprobarea Comisiei de Etică a UMF „Carol Davila”.

Animalele au fost alese pentru a avea o greutate înainte de inițierea experimentelor cuprinsă între 50 și 60 grame. Șobolanii Wistar au fost urmăriți pe o perioadă de 10 săptămâni, până la atingerea maturității și respectiv înțărare. Ulterior au fost supuși unei diete hipercalorice, hiperlipidice (30% din alimentație fiind reprezentată de grăsimi, respectiv de acizi grași saturați). A fost indusă astfel obezitatea experimentală, în final șobolanii având greutăți cuprinse între 200g și 250g. Ulterior femelele au fost împerecheate și urmărite 3 săptămâni pe perioada gestației. Femelele gestante obeze de șobolani au fost împărțite egal în **5 grupe** (fiecare conținând 10 femele, $n=10$), pentru experimentul I:

- **Grupul 1** a continuat dieta hipercalorică, hiperlipidică pe perioada gestației, de la momentul monei până la naștere, plus suplimentarea cu **acizi grași Omega 3** (DHA - acid docosahexaenoic și EPA - acid eicosapentaenoic) în concentrație de 0.1 g/kgc,

- **Grupul 2** - a continuat dieta hipercalorică, hiperlipidică pe perioada gestației, cu suplimentarea cu **acizi grași Omega 6**, în concentrație de 0.1 g/kgc,

- **Grupul 3** - a continuat dieta hipercalorică, hiperlipidică pe perioada gestației, cu suplimentarea cu **fructe de cătină**, în concentrație de 1 g/kgc,

- **Grupul 4** - a continuat **dieta hipercalorică, hiperlipidică** pe perioada gestației, fără suplimente nutriționale, reprezentând **lotul control** și

- **Grupul 5** - a primit o **dietă normocalorică și normolipidică**, denumită dietă standard. Dieta standard a fost reprezentată de nutreț combinat granulat, produs în cadrul Stațiunii Băneasa (numărul de identificare al nutrețului ROB 0001) și apă fără limitare.

Descendenții de sex feminin ai rozătoarelor au fost urmăriți în perioada de creștere, până la vârsta adultă. O parte dintre acestea (n=15) au fost împerecheate la vârsta adultă și au fost supuse aceluiași experiment, după ce au urmat o dietă standard pe perioada de creștere și pregestațional, fiind împărțite în 5 grupuri, pentru a studia efectele obezității asupra următoarei generații de pui, acesta constituind a doua parte a cercetării, respectiv experimentul II.

Consecutiv perioadei de gestație, la 3 zile după nașterea la termen, femelele de șobolani Wistar au fost sacrificate pentru analiza:

- **secreției de adipokine materne:** leptina și adiponectina dozate din sângele venos a fost colectat pe EDTA din vena jugulară, centrifugat și analizat folosind metoda ELISA.

- **nivelelelor serice și tisulare ale markerilor de peroxidare lipidică și antioxidanți** prin: malonil-dialdehidă (MDA), tioli totali (proteine cu cisteină) și glutatation total (GSH). Statusul tisular al peroxidării a fost stabilit prin analiza markerilor menționați mai sus din omogenatele realizate prin potărare din placentă, pancreas, ficat și creier.

- **indicilor biochimici de rutină** (proteine totale, transaminaze, glicemie, albumină, GGT, uree, acid uric, colesterol total și HDL, trigliceride), analizați din sângele venos matern.

Dozarea parametrilor biochimici plasmatici

Markerii biochimici plasmatici utilizați în practica uzuală clinică pentru evaluarea stării generale de sănătate au fost analizați folosind metode standardizate prin intermediul unor kituri enzimatic înregistrate, ca urmare producției Hospitex Diagnostics. Aceștia au urmărit analiza funcției hepatice prin evaluarea transaminazelor și GGT, renale prin uree, metabolismului glucidic prin glicemie, lipidic prin trigliceride, colesterol total și HDL, purinelor prin acidul uric și statusului proteic prin albumină și proteine totale.

Dozarea parametrilor de stres oxidativ

A fost analizat nivelul peroxidării lipidice, atât sistemice, evaluate prin activitatea glutatation-peroxidazei eritrocitare (GPx), superoxid-dismutazei eritrocitare (SOD) și glutatationului

total, cât și tisulare, măsurată prin intermediul malonil-dialdehiei (MDA), și respectiv a factorilor antioxidanți evaluați prin valorile glutatationului (GSH) și tiolilor totali. Determinarea nivelelor sistemice s-a realizat utilizând sânge venos recoltat din vena jugulară în momentul sacrificării animalelor, iar a celor tisulare din omogenate din placentă, ficat, pancreas și creier. Metoda de determinare utilizată a fost enzimatică folosind spectrofotometria de absorbție, probele fiind lucrate prin intermediul kiturilor pentru șobolani produse de Sigma Aldrich, Merck. Organele și țesuturile analizate au fost suspuse unui omogenator pe bază de acid, după recoltare și prelevare de probe din toate componentele acestora. S-a realizat o diluție de 1:10 cu ser fiziologic, urmată de centrifugare cu analiza supernatantului prin metoda spectrofotometrică.

Dozarea markerilor adipocitari sistemici

Secreția de adipokine are roluri fundamentale în reglarea homeostaziei țesutului adipos și metabolismului energetic. În situații patologice precum obezitate și sindrom metabolic, producția de adipokine de la nivelul țesutului adipos este alterată, apărând fenomenul de “adipokine shift”.

Dozarea nivelului de adiponectină serică

Nivelul de adiponectină serică a fost măsurat utilizând o tehnică imunoenzimatică, care implică o metodă tip ”sandwich” gen ELISA, folosind kitul EIA 4172, produs de DRG International Inc. USA. Toate etapele de lucru din determinarea adiponectinei s-au realizat automat utilizând analizorul de imunologie și biochimie Chemwell 2010, produs de Awarness Technology INC (SUA), asistat de două soft-uri specifice în conceperea și desfășurarea metodei de lucru.

Dozarea nivelului de rezistină serică

Pentru determinarea nivelului rezistinei s-a utilizat metoda imunoenzimatică de tip ELISA, prin intermediul kitului EIA 4283, produs de DRG International Inc. USA.

Analiza histopatologică a organelor materne și fetale

Stabilirea diagnosticului anatomo-patologic s-a realizat prin analiza examenului histopatologic al organelor recoltate, respectiv placentă, ficatul, pancreasul și creierul. Examinarea histologică a urmat etapele descrise mai jos.

Fixarea și procesarea probelor. După recoltare, probele au fost fixate imediat în soluție

tamponată de formol 10% pentru un interval de 24 de ore. După fixare, s-a folosit tehnica la parafină, constând în succesiunea unor etape standard: fixarea probelor în soluție tamponată de formol 10% timp de 24 de ore, spălarea acestora, deshidratarea în băi succesive de alcool 70%, 96% și absolut, etapă urmată de includerea în parafină. Procesarea și includerea la parafină s-au făcut automat în procesorul de țesuturi Thermo Scientific STP 120-3, iar includerea în parafină s-a realizat cu ajutorul stației Thermo Scientific Microm EC 350-1.

Secționarea și etalarea. După includere, cu microtomul Leica RM 125RTS blocurile au fost secționate la o grosime de 3-4 μm și etalate pe lame histologice, ce au fost colorate ulterior cu ajutorul aparatului automat de colorare a lamelor Thermo Scientific Microm HMS 70. Colorația utilizată a fost hematoxilină-eozină (H&E), care permite o bună diferențiere a tipurilor celulare.

Examinarea microscopică. Examinarea lamelor histologice s-a efectuat folosind microscopul Olympus BX 41, dotat cu sistem de achiziție Olympus SP350, iar pentru analiza imaginilor obținute s-a folosit programul semiautomat de analiză imagine Olympus Cell[^]B.

Analiza statistică a datelor

Toate rezultatele s-au calculat după obținerea datelor clinice consecutiv efectuării a cel puțin 3 experimente independente ($n=3$). Acestea sunt exprimate sub formă de valoare medie $\pm$ deviația standard (SD). Rezultatele au fost raportate la grupul control reprezentat de lotul 4, fiind analizată ulterior semnificația statistică. În acest sens a fost utilizat testul t-Student (t-test), cu calcularea valorii p. Pentru valori $p<0.05$ rezultatele s-au considerat semnificativ statistice.

REZULTATE

Efectul intervențiilor nutriționale asupra parametrilor biochimici plasmatici

Au fost obținute următoarele rezultate, evaluând cele 4 tipuri de intervenții nutriționale prin comparație cu grupul control:

- Nivelul **glicemiei** ca indicator al homeostaziei glucidice a fost semnificativ ($p < 0.05$) scăzut la toate loturile cu intervenții nutriționale. Această evoluție s-a păstrat atât pentru femelele participante la experimentul I, cât și pentru cele din experimentul II, însă cea mai puternică semnificație a fost obținută pentru grupul 1, care a primit ca supliment acizi grași Omega 3.

- Nivelurile înregistrate al **transaminazelor hepatice (ALT și AST)** au prezentat scăderi semnificative ($p < 0.01$) la toate grupurile de intervenții nutriționale, pentru ambele experimente.

- Valoarea **GGT** ca marker al funcției hepatice a prezentat scăderi pentru toate grupurile cu intervenții terapeutice, rezultatele având relevanță statistică ($p < 0.01$) doar în cazul grupului tratat cu acizi grași Omega 3, atât la experimentul I, cât și II.

- Valoarea **acidului uric** seric a scăzut semnificativ ($p < 0.05$) în cazul tuturor loturilor cu intervenții nutriționale, pentru ambele părți ale experimentului.

- Nivelul **colesterolului seric total** a înregistrat o scădere semnificativă ($p < 0.05$) în cazul grupurilor cu suplimentare de acizi grași Omega 3 și fructe de cătină, în ambele experimente.

- Valoarea **HDL-colesterolului**, ca și fracție colesterolică protectivă împotriva riscului cardiovascular și metabolic, a înregistrat creșteri semnificative ($p < 0.01$) pentru toate grupurile supuse intervențiilor nutriționale în ambele părți ale experimentului. Cea mai semnificativă creștere a fost regăsită la grupul tratat cu acizi grași Omega 3.

- Valoarea **trigliceridelor** serice a scăzut semnificativ ($p < 0.05$) în cazul tuturor grupurilor cu intervenții nutriționale, obținându-se cea mai importantă semnificație statistică ($p < 0.001$) la loturilor cu suplimentare de acizi grași Omega 3 și fructe de cătină pentru ambele experimente.

- Nivelul de **uree** serică, ca martor al funcției renale, a cunoscut o scădere semnificativă ($p < 0.01$) în cazul grupurilor cu suplimente de fructe de cătină și acizi grași Omega 3 în ambele experimente. Semnificația cea mai importantă a fost obținută la femelele tratate cu cătină.

Rezultatele obținute susțin ideea unui status metabolic alterat pentru femelele de șobolani Wistar cu obezitate indusă prin aport exogen. Acesta se traduce prin valori modificate în sensul creșterii ale parametrilor metabolici precum **glicemia, colesterolemia, trigliceridemia, uremia și uricemia**, respectiv în sensul scăderii pentru indici ca **HDL-colesterolul**. Se poate afirma așadar, că obezitatea cauzată de dieta hiperlipidică, hipercalorică a generat disfuncții ale metabolismului glucidic, lipidic și protidic. Aceste disfuncții s-au asociat cu prezența unui fenotip specific, cu depunere de obezitate excesivă predominant la nivel abdominal, accentuând adipozitatea viscerală.

Alterările metabolice observate la femelele de șobolani care au participat la prima parte a experimentului sunt cauzate în mod direct de **dieta hipercalorică**, pe care acestea au primit-o sistematic timp de 13 săptămâni. În ceea ce privește participantele la a doua parte a cercetării, acestea au fost suspuse la aport caloric exogen excesiv pe o perioadă relativ scurtă, de doar 3 săptămâni, cât durează gestația. Deși factorul obezogen a fost suprapus unei stări fiziologice de anabolism, cum este sarcina, nu consider că aceste femele au fost expuse un interval suficient de îndelungat la hiperalimentație, pentru a se explica alterările metabolice similare cu cele ale șobolanilor din primul experiment. Din acest motiv, am căutat o altă explicație pentru statusul metabolic advers al femelelor din experimentul II, care a fost identificat prin programarea genetică suferită în mediul intrauterin de acestea. Femelele subiecți în partea a doua a cercetării au fost recrutate din descendenții primului lot de șobolani, fiind expuse pe perioada de embriogeneză și organogeneză la efectele adverse generate de obezitatea indusă prin dietă a mamelor lor. Acest aspect subliniază importanța **programării epigenetice metabolice**, care induce la femelele din experimentul II, intens susceptibile la alterări metabolice, modificări asemănătoare cu cele observate la femelele cu dietă obezogenă pe perioadă îndelungată. Mecanismul de mai sus pune la dispoziție una dintre explicațiile prevalenței mari, în continuă creștere a obezității la nivel mondial, alături de factorii de mediu precum dieta, industrializarea, sedentarismul, stresul. Acesta contă în autoperpetuarea “genei obezității”, care asigură transmiterea imprimărilor epigenetice anormale de la o generație la alta, cauzând alterări fenotipice cu predispoziție la obezitate adultă, sindrom metabolic, afectare cardiovasculară, patologii hipertensive, diabet zaharat sau patologii neurologice. Modificările genetice se propagă de la o generație la alta, putând suferi și alterări ulterioare cauzate de expunerea la alți agenți inductori, cauzând de fapt un cerc vicios. Intervențiile nutriționale cercetate au dovedit

potențialul de a **normaliza parametrii biochimici metabolici**, efect semnificativ statistic prin raportare la lotul control. Suplimentarea dietei cu **acizi grași Omega 3** a îmbunătățit metabolismul glucido-lipidic, prin normalizarea nivelurilor **glicemiei, trigliceridelor, colesterolului total și HDL**.

Efectul intervențiilor nutriționale asupra parametrilor de stres oxidativ

Efectul intervențiilor nutriționale asupra parametrilor de stres oxidativ sistemici

Prima observație este reprezentată de creșterea capacității antioxidante sistemice dovedită prin valori ridicate la grupele supuse intervențiilor nutriționale, comparativ cu lotul martor cu dietă grasă. Cea mai semnificativă ameliorare s-a înregistrat la grupurile cu acizi grași Omega 3 și cătină.

Efectul intervențiilor nutriționale asupra nivelului superoxid-dismutazei (SOD) eritrocitare

Valorile SOD comparativ între femelele participante la cele două părți ale cercetării au fost similare, explicate prin programarea genetică a femelelor din experimentul II către un status prooxidant și proinflamator. Pentru puii obținuți în urma experimentelor, cei din prima parte au prezentat niveluri ușor mai crescute ale SOD. Deși stimulul prooxidant și proinflamator a fost același de-a lungul studiului, puii din al doilea experiment au reprezentat a doua generație consecutivă de expunere la obezitate maternă. Acest fapt generează un efect negativ cumulativ, care evidențiază clar modalitatea prin care complicațiile metabolice ale obezității au potențialul de a se autopropaga și augmenta cu fiecare generație subsecventă. Activitatea SOD **a crescut semnificativ** la grupurile cu **suplimente de acizi grași Omega 3 și fructe de cătină** ($p < 0.001$).

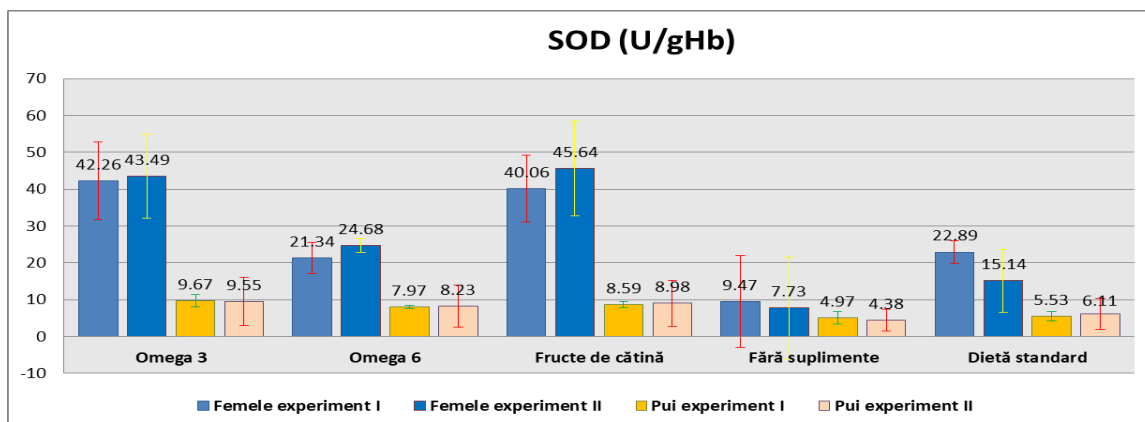


Figura1. Nivelul SOD la femelele și puii suspuși experimentului I și II

Efectul intervențiilor nutriționale asupra nivelului glutation-peroxidazei (GPx) eritrocitare

GPx eritrocitară a suferit creșteri semnificative la femelele tratate cu acizi Omega 3 și fructe de cătină ($p < 0,01$), în ambele experimente. Creșterea a fost însă superioară pentru femelele din al doilea experiment, sugerând un efect antioxidant superior atunci când suplimentele sunt oferite femelelor de șobolani cu predispoziție genetică spre afectare metabolică. Femelele cu imprimare metabolică adversă suferită în urma programării intrauterine adverse înregistrează un status prooxidant bazal, care este potențat de dieta hipercalorică, hiperlipidică primită la rândul lor în sarcină. Probabil nivelurile înalte de SRO generate de compușii prooxidanți ca urmare a activării anormale a căilor metabolice, sunt mai susceptibile la un răspuns la intervențiile terapeutice nutriționale, comparativ cu femelele supuse doar dietei obezogene.

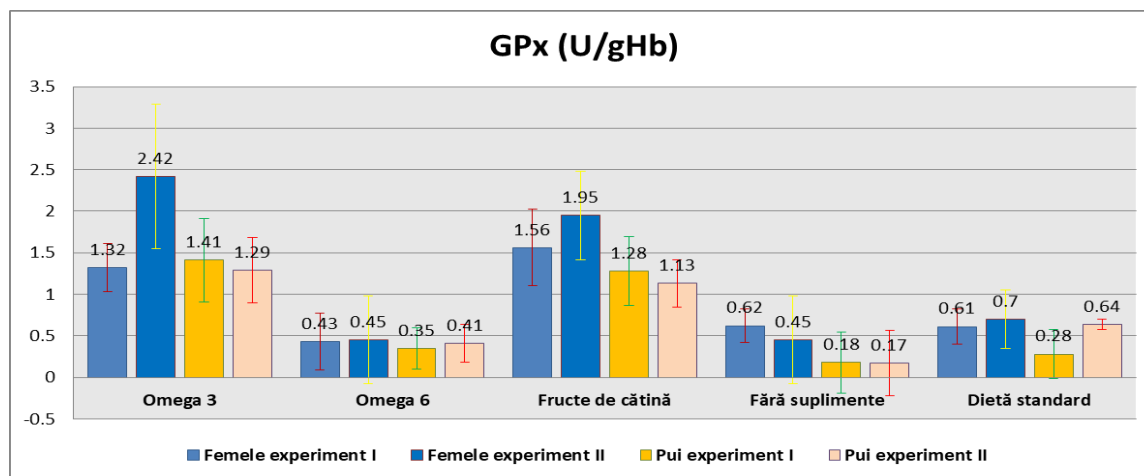


Figura 2. Nivelul GPx la femelele și puii suspuși experimentului I și II

Animalele de laborator care au participat la experimentul II au prezentat, în general, niveluri superioare de stres oxidativ, care au răspuns mai bine la intervențiile nutriționale testate. **Fructele de cătină** au reprezentat suplimentul cu cel mai bun rezultat obținut în ceea ce privește creșterea GPx. Putem afirma că **obezitatea maternă pe perioada sarcinii induce un stres oxidativ ridicat**, atât la acestea, cât și la descendenți, suplimentarea pe perioada sarcinii a alimentației materne cu factori antioxidanți fiind justificată.

Efectul intervențiilor nutriționale asupra parametrilor de stres oxidativ tisulari

Se observă o creștere a MDA cu scăderea concomitentă a glutationului și tiolilor totali la nivelul tuturor omogenatelor tisulare, ca urmare a unui nivel de stres oxidativ ridicat la grupul de

femele de șobolani cu dietă grasă pe tot parcursul sarcinii și la puii acestora. Aceste rezultate sunt corelate pozitiv cu alterările histologice întâlnite în organele acestor șobolani.

Efectul intervențiilor nutriționale asupra nivelului malonil-dialdehidei (MDA) tisular

Placenta, ca organ ce asigură transferul materno-fetal de nutrienți, a fost supusă unui stres oxidativ important la femelele de șobolani, nivelul MDA placentar fiind ridicat, care poate explica parțial anomaliile de creștere și dezvoltare fetală observate la descendenții acestora. Nivelul MDA a fost semnificativ scăzut la grupurile de șobolani care au primit suplimente cu acizi grași Omega 3 și fructe de cătină ($p < 0,001$), efecte generate de acțiunea puternică antiinflamatoare și antioxidantă a acestor suplimente. Cea mai eficientă reducere a nivelului peroxidării lipidice placentare a fost obținută la fructele de cătină. Implementarea dietei standard la șobolani în timpul sarcinii a scăzut de asemenea semnificativ nivelul MDA ($p < 0,01$), însă mai modest.

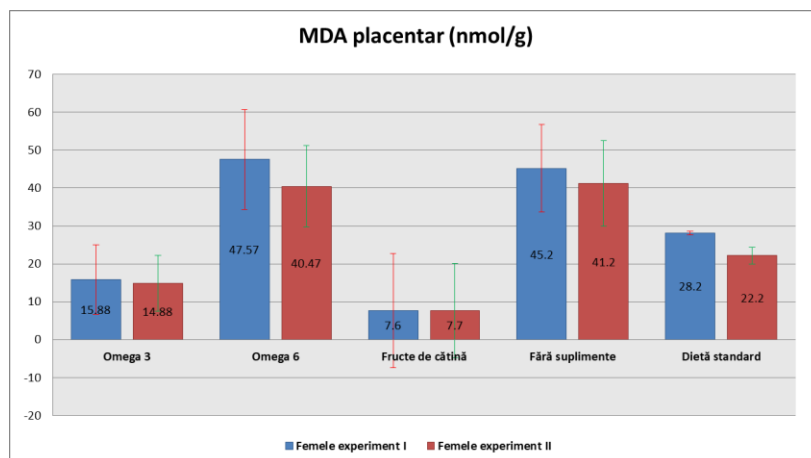


Figura 3. Nivelul MDA placentar la femelele suspuse experimentului I și II

Cele mai mari nivele de MDA hepatic au fost obținute la descendenții experimentului II, ca urmare a faptului că aceștia sunt de fapt apăruiți după două generații de expunere la obezitate, aspect care generează un efect cumulativ. Prima generație de femele cu obezitate indusă experimental au născut pui la care stresul oxidativ hepatic s-a exprimat mai intens, comparativ cu statusul matern. La a doua generație de femele, efectul de accentuare a peroxidării lipidice hepatice fetale a fost și mai pronunțat. Putem afirma astfel, că stresul oxidativ hepatic a fost mai evident la descendenți, obezitatea cauzând un efect hepatotoxic fetal mai pronunțat probabil prin imaturitatea mecanismelor hepatice fetale reparatorii antioxidante. Comparând femelele

participante la studiu, hepatotoxicitatea dietei obezogene s-a manifestat mai accentuat la cele din al doilea experiment, care prezentau deja imprimare genetică adversă din viața lor intrauterină.

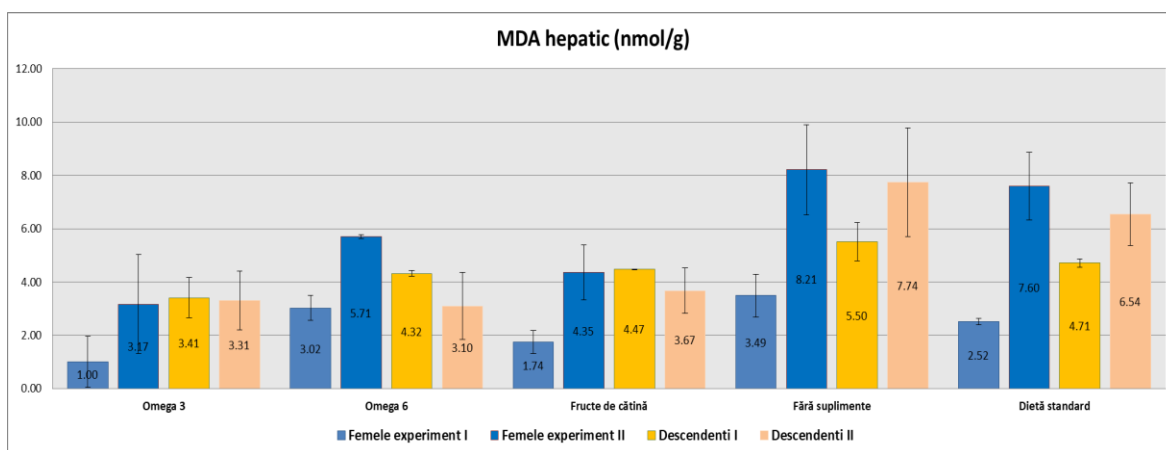


Figura 4. Nivelul MDA hepatic la femelele și puii suspuși experimentului I și II

Similar, valorile MDA pancreatic au fost superioare la descendenți, prin comparație cu mamele, cel mai mare nivel fiind observat de descendenții din experimentul II. Acest aspect sugerează o alterare cronică, ce se transmite de la o generație la alta, și cauzează alterarea metabolismului glucidic cu apariția intoleranței la glucoză prin efectele cumulative. Epidemia de obezitate și diabet zaharat este explicată parțial de aceste modificări apărute în cascadă la descendenți, accentuându-se alterările cu fiecare generație apărută.

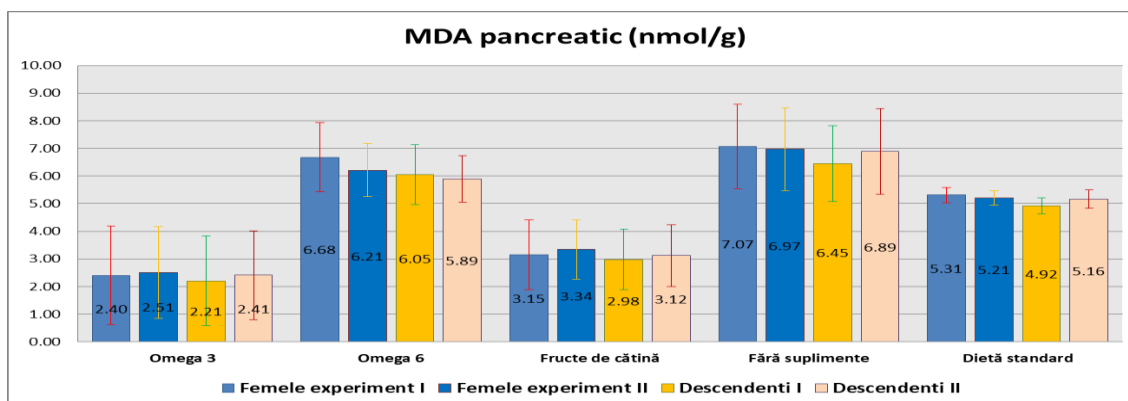


Figura 5. Nivelul MDA pancreatic la femelele și puii suspuși experimentului I și II

Efectul intervențiilor nutriționale asupra nivelului glutatationului total tisular

Valorile glutatationului placentar au fost scăzute la grupul de femele cu dietă grasă pe perioada sarcinii, cu nivele superioare în experimentul II, fără a avea relevanță statistică. Deși

nivelul MDA ca marker al peroxidării lipidice a arătat creșteri importante la aceste femele, se pare că și moleculele antioxidante cresc compensator. Acest fapt confirmă existența unui proces reparator la nivel placentar, menit să reverseze efectele adverse ale dietei obezogene, care însă nu face față stresului oxidativ apărut. Administrarea de suplimente a determinat creșterea importantă a capacității antioxidante placentare prin ridicarea valorilor glutatationului generată în principal de acizii grași Omega 3 ($p<0,001$), dar și de fructele de cătină ($p<0,001$).

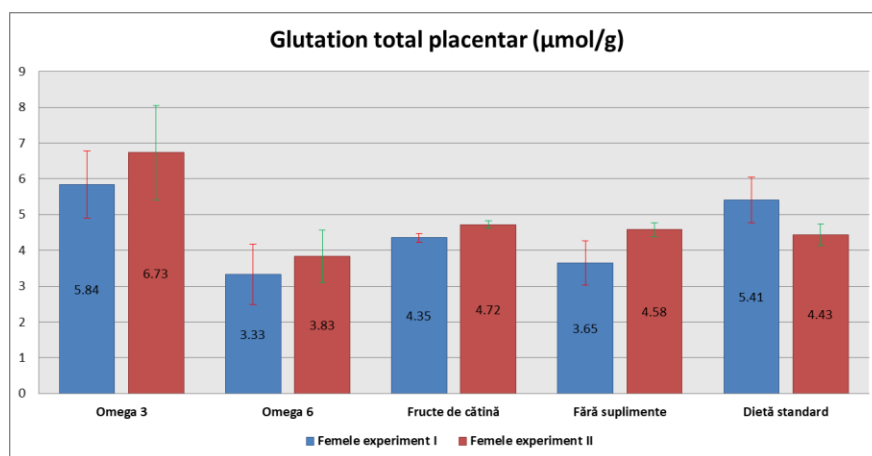


Figura 6. Nivelul glutatationului placentar la femelele suspuse experimentului I și II

Glutatationul hepatic a suferit o scădere comparativă la femelele și puii de șobolani din cele două experimente, neexistând diferențe semnificative între aceștia. Efectul hepatotoxic al alimentației materne hipercalorice, hiperlipidice este prin urmare stabil. Suplimentele cu eficiență similară în reducerea stresului oxidativ hepatic au fost reprezentate de administrarea de acizi grași Omega 3 și fructe de cătină ($p<0,05$).

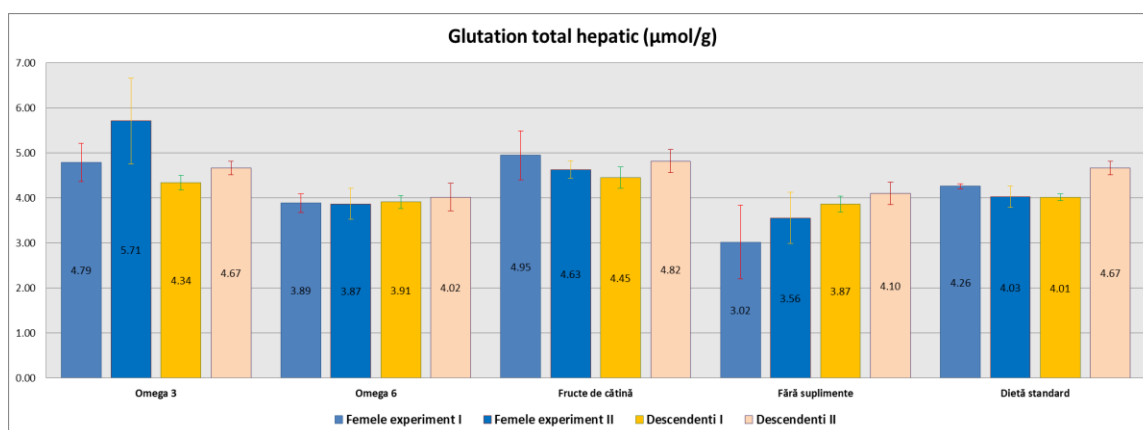


Figura 7. Nivelul glutatationului hepatic la femelele și puii suspuși experimentului I și II

La nivelul pancreasului nu s-au observat diferențe consecvente între valorile glutationului decelate la femelele de șobolani Wistar și puii acestora, sau între experimentele I și II. Cea mai semnificativă creștere a nivelului antioxidant pancreatic prin ameliorarea nivelului glutationului total a fost la grupurile tratate cu fructe de cătină ($p<0,001$) și cu acizi Omega 3 ($p<0,01$). Acest efect benefic al intervențiilor nutriționale a fost superior la loturile de mame, comparativ cu descendenții, probabil ca urmare a metabolizării crescute la nivel matern a suplimentelor. Adminstrarea de acizi grași Omega 6 a generat un efect detrimental asupra stresului oxidativ pancreatic, în timp ce dieta normocalorică a determinat creșteri fără semnificație statistică.

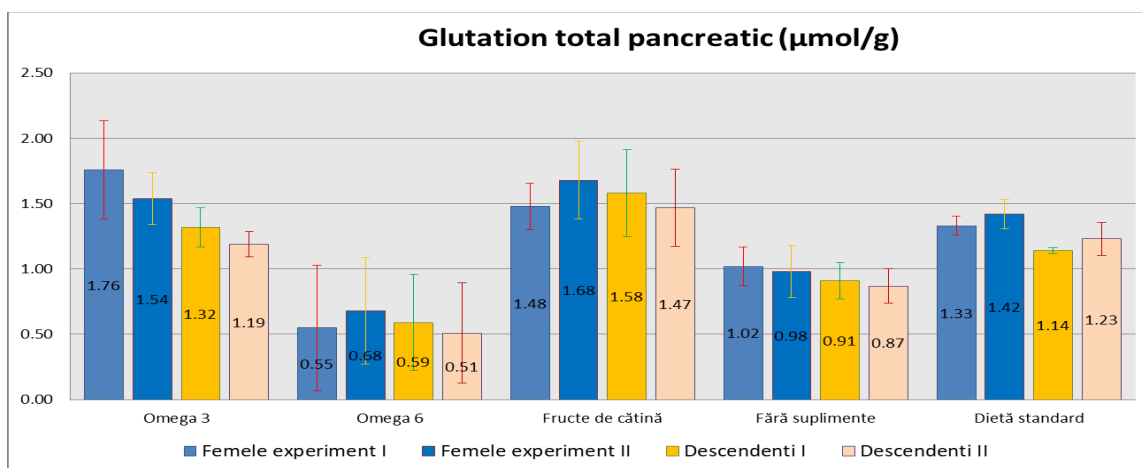


Figura 8. Nivelul glutationului pancreatic la femelele și puii suspuși experimentului I și II

Efectul intervențiilor nutriționale asupra nivelului tiolilor totali tisulari

Deși diferențele nu au fost mari, valorile reduse similar glutationului pentru femelele cu dietă grasă fără suplimente, au fost ameliorate prin administrarea de acizi grași Omega 3 și fructe de cătină ($p<0,05$), în timp ce acizii Omega 6 nu au generat rezultate favorabile. Valori mai scăzute ale acestora au fost înregistrate în cazul puilor, comparativ cu mamele, sugerând un efect hepatotoxic mai accentuat la nivel fetal, cu mecanisme celulare imature, corelat pozitiv cu nivelul crescut al MDA. Femelele din experimentul II prezentat valori mai ridicate ale moleculelor antioxidante, acestea fiind supuse efectului negativ al dietei obezogene pe o perioadă de timp inferioară, rezultatele obținute sugerând un efect hepatotoxic dependent de intervalul de expunere.

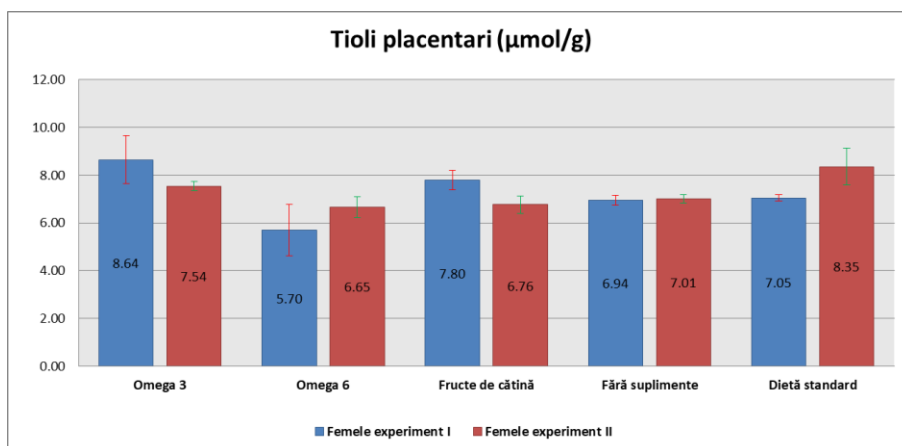


Figura 9. Nivelul tiolilor totali placentari la femelele suspuse experimentului I și II

Cea mai eficientă intervenție terapeutică pentru creșterea nivelului tiolilor de la nivelul ficatului a fost reprezentată de administrarea de acizi grași Omega 3 și fructe de cătină ($p < 0,05$) în cazul femelelor de șobolani Wistar, rezultatele obținute în cazul puilor fiind mai reduse. De asemenea, suplimentarea cu acizi grași Omega 6 și respectiv dieta normocalorică, normolipidică au determinat creșteri ale nivelului tiolilor totali hepatici, însă fără semnificație statistică.

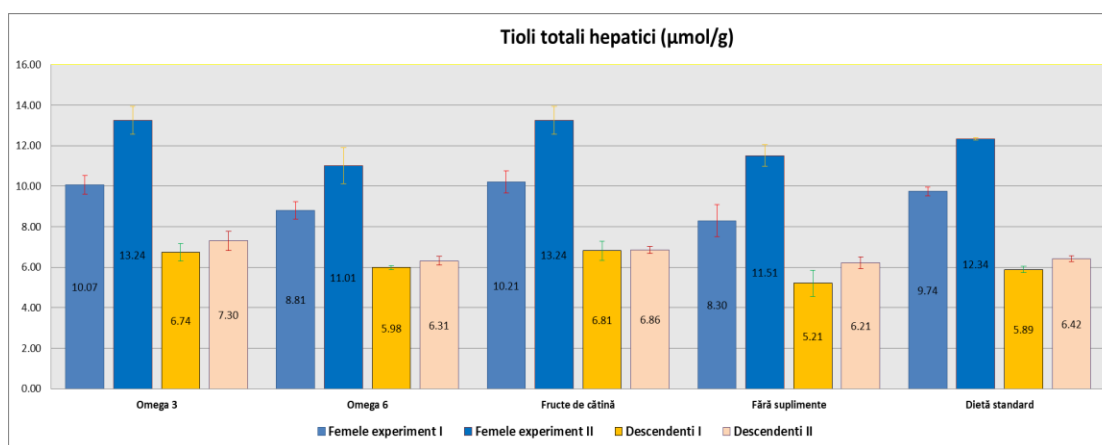


Figura 10. Nivelul tiolilor totali hepatici la femelele și puii suspuși experimentului I și II

Diferențele observate la nivelul țesutului pancreatic sunt mult mai evidente, comparativ cu cel hepatic. Valorile foarte scăzute ale tiolilor pancreatici observate la animalele cu dietă grasă au fost semnificativ modificate prin administrarea de suplimente. Se observă un efect antioxidant puternic la nivel pancreatic al administrării de acizi grași Omega 3 ($p < 0,001$) și fructe de cătină ($p < 0,001$), atât pentru grupurile de femele, cât și pentru pui. Acizii Omega 6 nu au determinat efecte benefice, având în fapt acțiune prooxidantă, iar dieta normocalorică a generat rezultate

slabe. Putem concluziona faptul că administrarea de suplimente cu Omega 3 și cătină generează efecte protectoare pancreatice superioare comparativ cu acțiunea hepatotectoare.

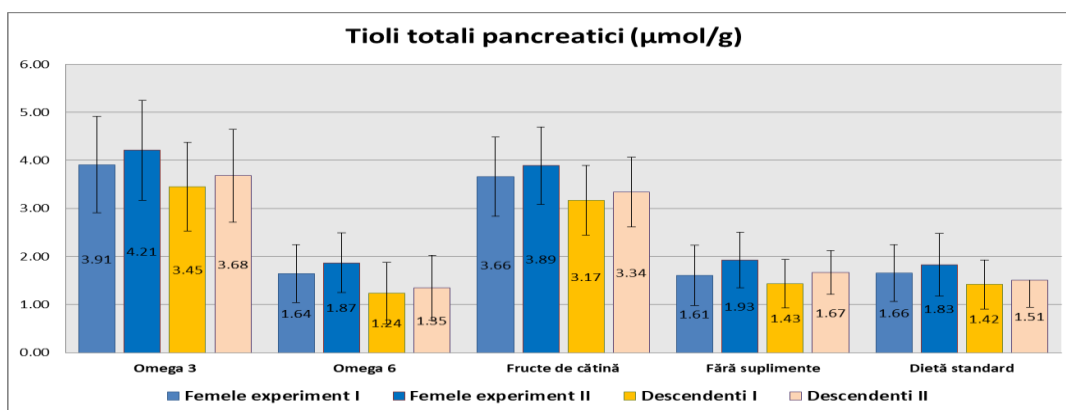


Figura 11. Nivelul tiolilor totali pancreatici la femelele și puii suspuși experimentului I și II

Efectul intervențiilor nutriționale asupra markerilor adipocitari sistemici

Adiponectina, ca principală adipokină cu rol insulino-sensibilizator, și rezistina, ca și moleculă ce contracarează acțiunea adiponectinei, au fost evaluate de la nivel sistemic pentru femelele și puii participanți la studiu în cele două experimente.

Efectul intervențiilor nutriționale asupra nivelului de adiponectină serică

Nivelurile adiponectinei au fost crescute semnificativ de administrarea de acizi grași Omega 3 și fructe de cătină ($p < 0.001$) la animalele participante la experimentul I și II, valorile fiind similare. Se poate afirma astfel că aceste suplimente ameliorează sensibilitatea periferică la insulină cel mai semnificativ.

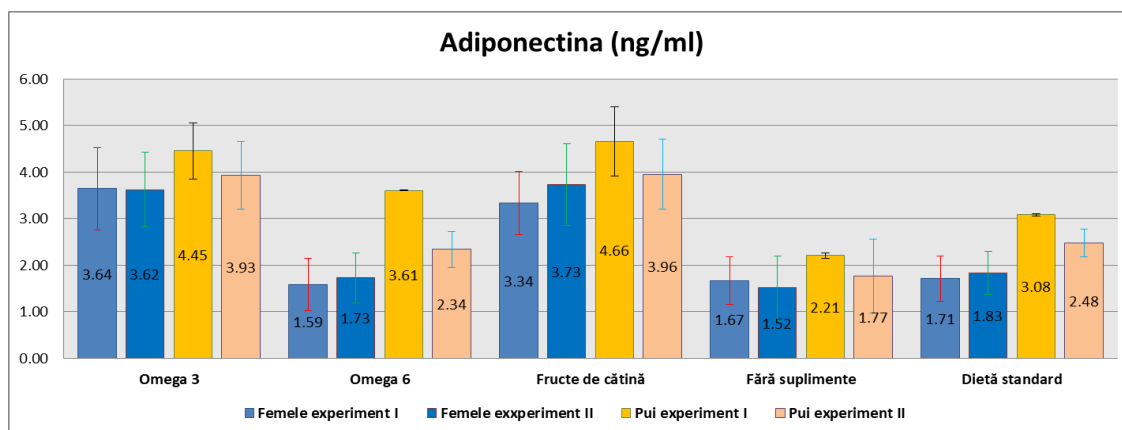


Figura 12. Nivelul adiponectinei la femelele și puii suspuși experimentului I și II

Efectul intervențiilor nutriționale asupra nivelului de rezistină serică

Rezistina cu rol în promovarea rezistenței periferice la insulină, prezintă valori ridicate la femelele de șobolani Wistar supuse dietei obezogene. Comparând nivelurile dintre cele 2 experimente, se observă valori superioare la femelele din experimentul I, sugerând faptul că durata aportului exogen hipercaloric hiperlipidic are o importanță deosebită. Valorile crescute ale rezistinei se întâlnesc și la puii din cele două experimente în mod paralel cu mamele, confirmând influența comportamentului alimentar și a principiilor nutriționale asupra secreției de adipokine. Intervențiile nutriționale cu cea mai bună eficiență în scăderea valorilor rezistinei au fost administrarea de **acizi grași Omega 3 și fructe de cătină** ($p < 0,001$). Dieta normocalorică, normolipidică a avut rezultate dar inferioare administrării celor două suplimente menționate.

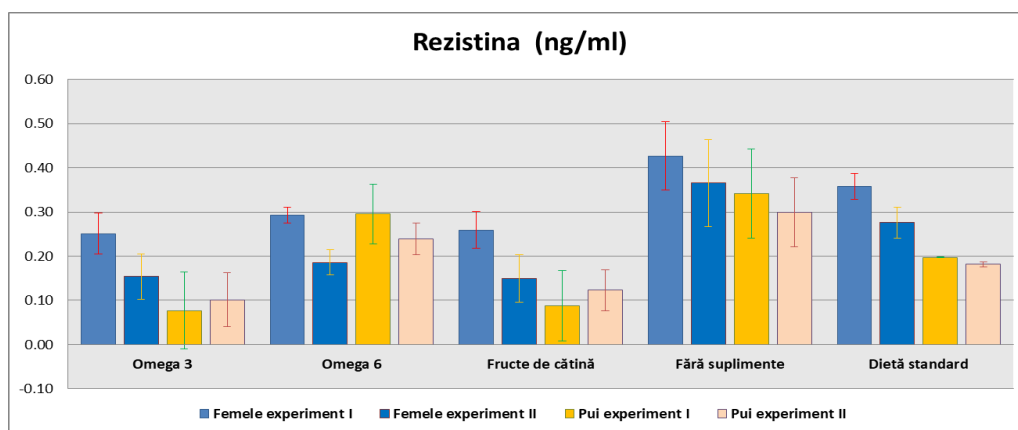


Figura 13. Nivelul rezistinei la femelele și puii suspuși experimentului I și II

Efectul intervențiilor nutriționale asupra structurii histologice a organelor materno-fetale

Au fost studiate placenta, ca și organ ce efectuează și controlează schimburile materno-fetale, cu impact asupra dezvoltării fetale, pancreasul ca țesut implicat în metabolismul glucidic, ficatul pentru a aprecia funcția sa de sinteză și epurare și respective creierul pentru analiza influențelor dietei obezogene asupra programării neuronale.

Efectul asupra structurii histologice a organelor femelelor din experimentul I

Histologia placentară este dominată de apariția infiltratului inflamator la aceste femele, cu ectazie vasculară, depozite de glicogen și vacuolizări intracitoplasmatică. Apariția

degenerărilor celulare caracterizează alterarea medie prezentă la grupul cu acizi grași Omega 6, în timp ce distrucția tisulară extinsă cu necroză evidentă și apariția vacuolizării celulelor gigante multinucleate este caracteristică alterării majore, evidențiată la grupul cu dietă grasă. Intervențiile nutriționale care au dovedit un rol protector în apariția leziunilor histologice placentare au fost administrarea de acizi grași Omega 3, fructe de cătină și respectiv dieta normocalorică. Efectele antiinflamatoare ale suplimentelor sunt responsabile de ameliorarea histologiei placentare la acești șobolani. Administrarea fructelor de cătină a generat cel mai bun efect, comparativ cu toate celelalte intervenții, sugerând astfel implicarea căilor inflamatorii în alterările tisulare descrise.

Structura histologică a ficatului a prezentat de asemenea modificări semnificative, mergând până la aspectul de hepatoză granulo-vacuolară, prezent la grupul cu dietă grasă, caracterizat de inflamație intensă, depuneri multiple de glicogen intrahepatocitar, o concentrație ridicată de celule Kupffer și alterarea spațiului Disse. Administrarea suplimentelor și dieta normocalorică au reversat leziunile până la nivelul de alterare minoră. Cea mai eficientă intervenție a fost administrarea fructelor de cătină, care prin efectele antiinflamatorii promovează exportul trigliceridelor de la nivel hepatocitar, contribuind la ameliorarea histologiei. Administrarea de acizi grași Omega 3 și Omega 6 au contribuit la determinarea aspectului de hepatopatie minoră, însă au redus semnificativ inflamația tisulară. Efectul hepatoprotector a fost demonstrat și de dieta normocalorică pe perioada gestației, prin reducerea inflamației și a depozitelor de glicogen.

Structura pancreasului a prezentat alterări multiple cauzate de obezitatea maternă, culminând cu apariția alterării de grad mediu în cazul lotului cu dietă grasă. Acestea au fost reprezentate de edem, inflamație periacinară și a țesutului adipos peripancratic și vacuolizări citoplasmice la nivelul celulelor insulelor Langerhans. Administrarea unei diete normocalorice a determinat absența vacuolizărilor intracitoplasmice, însă a menținut inflamația perilobulară la un nivel redus. Eficiența maximă în ameliorarea histologiei pancreatice a fost observată în cazul suplimentării cu acizi grași Omega 3 și fructe de cătină, care au redus semnificativ inflamația, fiind prezentă doar la nivel peripancratic. Administrarea de acizi Omega 6 a dovedit efecte protective parțiale, fiind redusă inflamația, dar cu persistența vacuolizărilor.

Histologia cerebrală a evidențiat alterări semnificative, incluzând neuronilor Purkinje, edem extins, hemoragii punctiforme cerebeloase, bazofilie citoplasmatică, modificări prezente mai ales la nivelul cerebelului la femelele cu dietă grasă pe perioada sarcinii. Toate intervențiile nutriționale cercetate au generat un efect neuroprotector, prin reducerea importantă a inflamației cerebrale și edemului. Suplimentarea cu acizi grași Omega 3 și fructe de cătină au avut o intervenție superioară la nivelul cortexului, unde au restabilit structura histologică normală.

Efectul asupra structurii histologice a organelor femelelor din experimentul II

Structura placentară a prezentat alterări similare celor detectate la femelele din experimentul I, sugerând faptul că deși au fost supuse unei diete obezogene pe o perioadă de timp diferită, animalele au avut afectare tisulară similară. Acest lucru poate fi explicat prin intermediul fenomenului de programare intrauterină, femelele din experimentul II prezentând o imprimare epigenetică alterată cauzată de obezitatea prezentă la mamele acestora pe perioada gestației. Administrarea de fructe de cătină a reprezentat intervenția optimă, reversând alterările placentare în totalitate. Acizii grași Omega 3 și implementarea unei diete normocalorice au redus alterările de la un grad de severitate major la unul minor, în timp ce administrarea de acizi Omega 6, prin acțiuni proinflamatorii intrinsecă, au menținut degenerarea celulară placentară la un nivel mediu.

Arhitectura ficatului examinată prin microscopie optică a relevat aspecte asemănătoare cu organele șobolanilor din primul experiment. Așadar, intervenția nutrițională cu cel mai bun efect hepatoprotector a fost administrarea de fructe de cătină, dar de această dată și acizii grași Omega 3 au determinat reversarea leziunilor hepatice.

Leziunile pancreatice identificate la femelele obeze cu dietă grasă și clasificate ca alterare medie au fost asociate cu o ameliorare substanțială în cazul suplimentării cu acizi grași Omega 3 și fructe de cătină. Acestea au redus semnificativ inflamația și prezența vacuolizărilor. Efectul protector pancreatic se bazează pe acțiunilor antioxidante și antiinflamatorii.

Structura țesutului nervos central a identificat aspecte de inflamație și necroză focală a neuronilor Purkinje, la fel ca în cazul experimentului I. Aceste leziuni au fost complet evitate prin suplimentarea cu acizi grași Omega 3 și fructe de cătină, dar și mult reduse prin administrarea de acizi Omega 6 și implementarea unei diete normocalorice, normolipidice.

Efectul asupra structurii histologice a organelor puilor din experimentul I

Structura ficatului observată la descendenții obținuți în urma experimentului I include alterări sugestive pentru hepatoza granulo-vacuolară. Administrarea suplimentelor alimentare de acizi grași Omega 3 cu efect asupra inflamației hepatocitare și metabolismului trigliceridelor, a condus la normalizarea aspectului microscopic. Administrarea de fructe de cătină, acizi Omega 6 și adoptarea unei diete standard la mame au redus la un nivel minim inflamația.

Arhitectura pancreatică a prezentat alterări de grad mediu în cazul puilor corespondenți femelelor cu dietă grasă, identificându-se infiltrat inflamator intens periacinar și peripancratic, vacuolizări ale celulelor Langherhans și infiltrație lipică stromală. Administrarea de suplimente nutriționale la mamă, indiferent de tipul acestuia, sau adoptarea unei diete nomocalorice, au generat același efect pancreatic de scădere a inflamației, cu apariția unui aspect de alterare minoră.

Țesutul cerebral a prezentat doar alterări minore la puii din experimentul I, respectiv necroză focală a neuronilor Pukinje, cariopicioză și vacuolizări nespecifice pentru grupul cu dietă maternă grasă. Aceste alterări au fost reversate de administrarea de acizi grași Omega 3 și dieta maternă nomocalorică, luând în considerare faptul că țesutul cerebral este bogat în lipide.

Efectul asupra structurii histologice a organelor puilor din experimentul II

La această categorie de pui, **structura ficatului** este supusă acelorași alterări descrise la mame și la puii din primul experiment, definite drept hepatoză granulo-vacuolară. Aceasta este reversată complet de administrarea de acizi grași Omega 3, și respectiv ameliorată de suplimentarea cu fructe de cătină și adoptarea dietei standard.

Alterarea **arhitecturii pancreasului** este minoră pentru toate grupele de pui rezultați în urma experimentului II, implicând inflamația grăsimii peripancratică și infiltrație lipidică stromală. Aceasta sugerează influență redusă a suplimentelor la nivel pancreatic pentru pui.

Aspectul **țesutului cerebral** este dominat de alterări histologice minore, precum vacuolizări nespecifice și necroză neuronală focală. Suplimentarea dietei hipercalorice cu acizi grași Omega 3 are un efect benefic, normalizând aspectul creierului. Este sugerat un efect neuroprotector fetal al acizilor Omega 3, care ajută la dezvoltare neuronală fetală optimă.

DISCUȚII

În ultimii ani, cercetarea și înțelegerea implicării obezității materne în alterarea metabolismului descendenților cu impact asupra sănătății acestora pe termen lung s-a extins. Cu toate acestea, descifrarea exhaustivă a interacțiunilor și căilor metabolice implicate în acest proces rămâne o provocare. Studiile publicate până în prezent sunt caracterizate de o mare heterogenicitate, variind ca durată de timp, model de inducere a obezității și implementare a intervenției nutriționale (periconcepțional, în perioada gestației, lactației sau pe termen lung).

Paradigma obezității materne în sarcină este extrem de complexă, implicând complicații fetale induse de factori asociați suprasolicitării energetice, proceselor inflamatorii, de oxido-reducere și genetice, afectând pe termen lung dezvoltarea fătului. În plus, majoritatea studiilor care au investigat efectele de programare ale obezității materne, au raportat deficiențe mai pronunțate la puii de sex masculin, nefiind clar înțeles de ce aceste apar diferențe specifice în funcție de sex.

Intervenția nutrițională precoce reprezintă o țintă terapeutică promițătoare în dezideratul de minimizare a complicațiilor apărute în dezvoltarea fetală într-un mediu intrauterin alterat. Cu toate acestea, nu este cert dacă suplimentele cercetate au efecte benefice care afectează în mod direct descendenții sau, mai degrabă, ameliorează metabolismul glucido-lipidic și oxido-reducător matern. Cu toate acestea, este demonstrat faptul că scăderea în greutate și intervențiile specifice dietetice, precum reducerea consumului de grăsimi saturate preconcepțional sunt cea mai eficientă și mai sigură modalitate de ameliorare a prognosticului metabolic al descendenților.

În concluzie, datele obținute în studii clinice și experimentale oferă dovezi convingătoare pentru a înțelege etiologia obezității și tulburărilor metabolice fetale pentru mamele obeze. Implementarea strategiilor intervenționale în vederea ameliorării consecințelor adverse cauzate de obezitatea maternă asupra descendenților este imperios necesară, deoarece reprezintă o acțiune terapeutică facil de realizat, cu costuri reduse, care îmbunătățește prognosticul pe termen lung și scurt fetal, prin scădere a riscului potențial cardiovascular, metabolic, inflamator, cu transmiterea genetică la generații subsecvente a acestor anomalii (Comandașu și colab., 2015).

Până în momentul în care află că este însărcinată o femeie, starea ei nutritivă a afectat deja dezvoltarea fetală. Până când se naște un copil, dezvoltarea profilului metabolic, endocrin,

cardiovascular și neurologic sunt în curs de desfășurare. Alimentația unui nou-născut, copil sau adolescent afectează sănătatea pe termen lung și greutatea cu indicele de masă corporală a individului la vârsta adultă. Acestea, la rândul lor în cazul femeilor, afectează creșterea și starea de sănătate a viitorilor copii. Această exemplificare succintă subliniază afirmația care spune că statutul nutrițional al femeilor ar trebui privit din perspectiva ciclului de viață. Aceste etape ale vieții, în special pentru sexul feminin, sunt interconectate în multe feluri. Starea nutrițională preconcepțională a femeii poate contribui la rezultate pozitive sau negative în timpul sarcinii. O treime dintre femeile supraponderale și obeze suferă de infertilitate, iar dacă rămân însărcinate, prezintă riscuri semnificative de a dezvolta complicații multiple, dintre care diabet gestațional, hipertensiune arterială indusă de sarcină și preeclampsie, boală trombo-embolică și incidență crescută de naștere prin operație cezariană. Nivelul circulant scăzut al acidului folic înainte de concepție și în primele 12 săptămâni de sarcină are un risc mult mai mare de apariție a defectelor de tub neural la femeile obeze, comparativ cu cele normoponderale.

Studiul privind excesul ponderal matern în timpul sarcinii și retenția de adipozitate postpartum este importantă din perspectiva modalității în care aceasta contribuie la riscul de obezitate și sindrom metabolic la generațiile următoare și datorită implicațiilor sale asupra sănătății feminine în anii fertilității. Prevalența în ascensiune a obezității la femeile de vârstă fertilă și proporția crescută de femei care au un câștig ponderal gestațional excesiv, atrag atenția asupra nevoilor de cercetare din acest domeniu, fiind actual o problemă de sănătate publică. Proiectarea unor studii intervenționale orientate în vederea reducerii excesului de greutate și limitării menținerii greutății postpartum este influențată de factori de risc psihosociali, culturali și comportamentali, care au potențialul de a prezice care femei sunt mai susceptibile de a avea un câștig ponderal gestațional superior recomandărilor actuale.

Există o legătură importantă între statusul nutrițional matern, metabolismul adipocitar, funcția placentară și transferul nutrienților către făt. Obezitatea maternă se corelează cu prezența unui proces inflamator generat de adipokine, care au influență asupra rezistenței materne la insulină, intoleranței la glucoză și respectiv modelării cardiovasculare și neuroendocrine asociate creșterii indicelui de masă corporală (Comandașu și colab., 2016).

CONCLUZII

Primul scop al studiului experimental a fost reprezentat de identificarea consecințelor materno-fetale datorate expunerii la obezitatea indusă prin dietă hipercalorică, hiperlipidică la femelele de șobolani Wistar. În acest scop au fost elaborate două modele experimentale diferite, care au cercetat atât influența directă a obezității și sindromului metabolic la gravidă asupra complicațiilor materno-fetale, cât și influența negativă asupra generațiilor subsecvente. Studiul a fost împărțit astfel în două experimente:

- Experimentul I a inclus femele adulte de șobolani Wistar cu obezitate indusă prin dietă hipercalorică, hiperlipidică inițiată după înțărcare până la naștere (aproximativ 13 săptămâni), care pe parcursul sarcinii au fost supuse unor intervenții nutriționale: suplimentarea cu acizi grași Omega 3, acizi grași Omega 6, fructe de cătină sau instituirea dietei normocalorice, normolipidice, toate rezultatele fiind raportate la totul control cu dietă grasă pe parcursul sarcinii.

- Experimentul II a inclus femele obținute ca pui din experimentul I, supuse dietei obezogene pe perioada gestației (aproximativ 3 săptămâni), dar și acelorași intervenții nutriționale ca femelele din experimentul I.

Principalele efecte ale obezității materne au fost reprezentate de afectarea metabolismului glucidic, asociată cu status proinflamator și prooxidant materno-fetal, pentru mamele și puii de șobolani Wistar participanți la ambele experimente. Dieta obezogenă pe parcursul gestației a cauzat alterarea a numeroși parametri de evaluare a stării de sănătate, dintre care:

- **hiperglicemia** ca primă afectare a metabolismului glucidic, caracterizată prin valori glicemice caracteristice toleranței alterate la glucoză, sau diabetului zaharat la specia umană.

- **dislipidemia prin hipercolesterolemie cu scăderera HDL-colesterol și hipertrigliceridemie.** Afectarea fracțiilor lipidelor plasmatică apare ca un efect cu instalare rapidă cauzat de dieta hipercalorică, hiperlipidică a animalelor de laborator. Aceasta afectează toate fracțiunile colesterolului și trigliceridelor, sugerând importanța dietei asupra profilului lipidic.

- **hiperuricemia**, acidul uric fiind un marker prooxidant. Creșteri ale valorilor acestuia implică stres oxidativ și potențială afectare a funcției renale la șobolani expuși la obezitate.

- **hepatocitoliza** ca urmare a alterării metabolismului acizilor grași la nivel hepatic și a creșterii nivelului moleculelor cu caracter inflamator la nivel hepatocitar.

- **creșterea GGT**, cu acțiune prooxidantă prin interferarea cu metabolismul glutatationului.

- **creșterea ureei** care certifică alterarea funcției renale, cauzată în principal de nivelul crescut de glucoză plasmatică și SRO.

- **status prooxidant și proinflamator sistemic prin scăderea nivelurilor SOD și GPx.** Confirmarea nivelelor ridicate ale stresului oxidativ la femelele obeze și puii acestora a reprezentat identificarea verigii de legătură între obezitate și apariția complicațiilor metabolice, cardiovasculare și neuroendocrine ale acesteia.

- **status prooxidant și proinflamator tisular prin creșterea MDA și scăderea glutatationului și tiolilor totali.** Stresul oxidativ sistemic s-a corelat cu statusul tisular la nivel placentar, hepatic și pancreatic. Așadar, implicațiile fiziopatologice ale obezității regăsesc mecanisme metabolice intracelulare prin care contribuie la alterarea funcției țesutului sau organului respectiv pe termen lung.

Rezultatele obținute confirmă perturbările metabolismului glucido-lipidic cauzate de obezitatea indusă experimental în gestație. Este sugestiv faptul că modificarea fenotipică a indicelui de masă corporală fost însoțită de numeroase alterări biochimice și metabolice, exprimate la toate animalele de laborator incluse în studiu.

Al doilea scop al lucrării a constituit evaluarea calităților terapeutice ale suplimentelor nutriționale cercetate, prin intermediul studierii efectelor hipoglicemiente, hipolipemiente, antiinflamatorii și antioxidante ale terapiei cu acizi grași Omega 3, acizi grași Omega 6 și fructe de cătină la femelele obeze de șobolani. Acestea au fost evaluate din perspectiva potențialului profilactic pentru apariția complicațiilor obezității gestaționale și adjuvant în tratamentul curativ.

Prima observație cu privire la efectul terapeutic al celor trei suplimente testate a fost optimizarea parametrilor biochimici cu impact metabolic, în proporție diferită în funcție de grupul de studiu, acestea prezentând acțiuni hipoglicemiente, hipolipemiente, hipouricemiente și hepatoprotectoare. Toate aceste rezultate au fost mai marcate la șobolanii din experimentul I,

expuși unei diete obezogene pe o perioadă îndelungată de 13 săptămâni, comparativ cu cei din lotul II, expuși la alimentație hipercalorică timp de doar 3 săptămâni.

Acizii grași Omega 3 au prezentat numeroase efecte benefice, administrarea acestora având impact semnificativ asupra **normalizării glicemiei, scăderii nivelului colesterolului total, trigliceridelor, acidului uric, transaminazelor (ALT și AST), GGT, ureei și MDA cu creșterea HDL-colesterolului, glutatationului și tiolilor totali, SOD și GPx**. Cele mai importante efecte terapeutice ale suplimentelor cu acizi Omega 3 au fost evidențiate asupra normalizării nivelului glicemiei, trigliceridelor, HDL-colesterolului, transaminazelor și acidului uric, în timp ce acțiunea la nivelul colesterolului total și ureei a fost mai redusă. Putem concluziona astfel că **acizii grași Omega 3 au efecte hipoglicemiente, hipolipemiente, hipouricemiente, hipoureemiente și hepatoprotectoare**. Aceștia au avut **cea mai semnificativă acțiune hipolipemiantă și antiinflamatorie** dintre toate suplimentele cercetate.

Acizii grași Omega 6 au dovedit acțiuni inferioare ca și impact asupra valorilor parametrilor analizați, comparativ cu acizii Omega 3. Datele obținute au constatat că aceștia au **acțiune hipoglicemiantă ușoară, hipolipemiantă prin scăderea trigliceridelor și creșterea HDL-colesterolului, hepatoprotectoare și hipouricemiantă**. Cea mai semnificativă modificare a parametrilor biochimici s-a înregistrat la nivelul transaminazelor (ALT și AST), acidului uric și HDL-colesterolului, cu efecte mai modeste asupra glicemiei și trigliceridelor.

Fructele de cătină au prezentat multiple efecte benefice, incluzând acțiunea **hipoglicemiantă, hipolipemiantă prin reducerea colesterolului total și trigliceridelor și creșterea HDL-colesterolului, hepatoprotectoare, hipouricemiantă, hipoureemiantă, antiinflamatorie și antioxidantă**. Cea mai semnificativă intervenție a fost reprezentată de normalizarea nivelului glicemiei, transaminazelor (ALT și AST), acidului uric, trigliceridelor, MDA, glutatationului și tiolilor totali, SOD și GPx, efecte mai reduse având și asupra valorii colesterolului total și HDL, ureei și GGT. Conținutul ridicat de flavonoide, vitamine și carotenoizi cu rol antiinflamator generează toate aceste acțiuni terapeutice ale cătinei. Aceasta a dovedit cea **mai puternică acțiune hipoglicemiantă** dintre toate suplimentele studiate, și respectiv **cea mai puternică acțiune antiinflamatorie la nivel placentar**.

În ceea ce privește normalizarea nivelurilor adipokinelor, estimate prin evaluarea adiponectinei și rezistinei, putem afirma că **au contribuit semnificativ la ameliorarea**

sensibilității la insulină suplimentele cu acizi grași Omega 3 și fructe de cătină. Relația de proporționalitate inversă între cele două adipocitokine implicate în apariția rezistenței la insulină la pacienții obezi s-a menținut după administrarea de suplimente, cele menționate anterior având un efect puternic de creștere a adiponectinei, respectiv scădere a rezistinei.

Al treilea scop al studiului a constat în **analiza histologică** a placentei și organelor matrne și fetale, pentru a identifica o corelație între nivelul matern determinat al paramentrilor bichimici, inflamatori și de stres oxidativ și cel tisular. Au fost cercetate placenta, ca organ care asigură schimburile materno-fetale, pancreasul pentru evaluarea metabolismului glucidic, ficatul pentru coroborarea cu nivelul de stres oxidativ și creierul pentru funcția neuromodulatoare. Alterarea structurii microscopice a acestor organe este cauza disfuncției organice, generând complicații cu consecințe metabolice, inflamatorii și neuroendocrine. Deși perioada de expunere la obezitate a fost foarte diferită (13 săptămâni versus 3 săptămâni) între șobolanii participanți la cele două experimente, ceea ce s-ar putea traduce printr-o afectare histopatologică superioară la cei cu expunerea mai prelungită, rezultatele obținute arată un grad comparabil de alterare a arhitecturii tisulare. Acest aspect contribuie la confirmarea histologică a fenomenului de programare epigenetică intrauterină negativă suferit de femelele participante la al doilea experiment, care sunt totodată pui obținuți din primul.

Cel mai semnificativ afectată a fost structura placentei, care a prezentat alterări majore caracterizate prin distrucție tisulară extinsă, hiperemie generalizată, infiltrat inflamator intens, o densitate crescută de celule gigante multinucleate și alterări celulare de tipul vacuolizărilor citoplasmice și nucleului picnotic. Având în vedere alterările cu caracter profund inflamator, **cea mai puternică acțiune benefică la nivel placentar a fost reprezentată de administrarea de fructe de cătină**, cu conținut ridicat de agenți antiinflamatori, în ambele experimente. **Utilizarea acizilor grași Omega 3 a determinat reducerea gradului de alterare placentară către unul minor, la fel ca și administrarea unei diete normocalorice**, în timp ce **Omega 6 a determinat doar limitarea afectării histologice la un nivel mediu**, având eficiență redusă comparativ cu celelalte intervenții nutriționale.

Histologia hepatică a suferit, de asemenea, modificări importante la femele obeze și puii acestora, **ușor mai pronunțate la șobolanii din primul experiment**, mergând până la **hepatopatie medie cu aspect de hepatoză granulo-vacuolară**. Intervențiile terapeutice

cercetate și-au dovedit eficiența hepatoprotectoare, prin reducerea alterării hepatice la una minoră, sau chiar normalizarea aspectului histologic. **Cea mai semnificativă intervenție terapeutică a fost reprezentată de utilizarea acizilor grași Omega 3**, care au reversat aproape complet leziunile hepatice, cu dispariția aspectului inflamator. **Suplimentarea cu fructe de cătină a generat un aspect de alterare hepatică minoră**, însă cu reducerea importantă a sindromului inflamator tisular și ameliorarea importantă a funcției hepatocitare.

Aspectul histologic al pancreasului a identificat prezența alterărilor de grad mediu generate de dieta obezogenă, la femelele din ambele experimente și la puii din experimentul I, și respectiv de grad minor la puii din al doilea. Aceste anomalii histologice au fost dominate de inflamație peripancreatică și periacinară, infiltrație lipidică stromală și vacuolizări nespecifice ale celulelor. **Intervențiile terapeutice care au reversat leziunile pancreatice** la mamele din cele două experimente au fost reprezentate de **administrarea de acizi grași Omega 3 și fructe de cătină**, în timp ce **suplimentarea cu acizi Omega 6 și instituirea dietei normocalorice au redus cu un grad afectarea pancreatică**. La ambele loturi de pui inflamația peripancreatică și aspectul vacuolar au fost menținute în ciuda suplimentării cu oricare dintre cele 3 suplimente sau implementarea unei diete standard. Acest aspect se poate explica prin faptul că intervențiile nutriționale au fost, de fapt, efectuate la mame, impactul lor asupra histologiei fetale fiind mai puțin evident comparativ cu cel matern.

Aspectul microscopic al țesutului cerebral a fost încadrat ca alterare histologică minoră la șoarecii obezi cu dietă grasă fără suplimente, caracterizat în principal prin necroza focală a neuronilor Pukinje și vacuolizări nespecifice, cu alterări celulare de tipul cariopiclozei sau bazofiliei citoplasmatică. **Suplimentul care a avut cea mai importantă acțiune la nivel cerebral, reversând complet leziunile a fost reprezentat de administrarea de acizi grași Omega 3**, fiind cunoscut faptul că la nivelul creierului există o concentrație ridicată de lipide. De asemenea, **fructele de cătină au reversat alterările histologice în cazul femelelor de șobolani Wistar, acest efect fiind absent la pui**. Suplimentarea dietei cu acizi grași Omega 6 și respectiv inițierea alimentației normocalorice au oferit rezultate mai modeste prin comparație cu celelalte două intervenții nutriționale.

Sumarizând, consecințele histopatologice ale dietei hipercalorice, hiperlipidice pe perioada sarcinii asupra țesuturilor materne și fetale cu rol metabolic sunt multiple și variate,

cauzând disfuncții importante. Considerând opțiunile terapeutice studiate, **cele mai semnificative efecte benefice descoperite sunt administrarea fructelor de cătină pentru limitarea alterărilor placentare și pancreatice, respectiv de acizi grași Omega 3 pentru ameliorarea afectării hepatice și cerebrale.**

Al patrulea scop al cercetării s-a focusat pe **elaborarea unei definiții a sindromului metabolic la gravidă, cu aplicabilitate clinică**, fiind cunoscut faptul că această patologie cu importantă morbiditate și mortalitate nu deține până în prezent o definiție general acceptată, sau criterii de diagnostic. Deși alte patologii cu impact metabolic specifice sarcinii, cum sunt hipertensiunea gestațională, preeclampsia, diabetul gestațional au ghiduri clare de diagnostic și conduită terapeutică, sindromul metabolic, ca patologie importantă prin prevalența ridicată și complicațiile asociate, nu a fost încă elucidat. Sindromul metabolic este raportat la femeia negravidă ca o asociere de condiții patologice cu etiopatogenie comună, care includ obezitatea cu dispoziție caracteristică a adipozității la nivel abdominal, dislipidemia, hiperglicemia și hipertensiunea arterială. Aceste caracteristici sunt frecvent modificate pe parcursul sarcinii, ca urmare a schimbărilor fiziologice sau patologice apărute. Importanța recunoașterii sale în clinică rezidă din faptul că gravida cu sindrom metabolic trebuie încadrată în categoria de risc metabolic înalt prin complicațiile potențiale materno-fetale.

Femelele de șobolani Wistar studiate, la care a fost indusă experimental obezitatea prin aport alimentar hipercaloric, hiperlipidic, au prezentat semnele definitorii pentru sindrom metabolic, așa cum este actual definit. Alterările metabolismului glucidic și lipidic prezente la acestea au fost expuse pe larg în capitolele anterioare, **incluzând fenotip clinic de obezitate abdominală specific rozătoarelor, hiperglicemie și dislipidemie prin hipercolesterolemie, hipetrigliceridemie și un nivel HDL-colesterol scăzut.** Complicațiile materne și fetale cauzate de prezența sindromului metabolic pe perioada gestației la animalele de laborator au fost cel mai elocvent confirmate de alterările histologice ale organelor cercetate, care explică disfuncțiile acestora, și de parametrii biochimici și de stres oxidativ serici și tisulari alterați. Afectarea placentară severă cu consecințe directe asupra dezvoltării intrauterine a fătului, și complicații metabolice ulterioare în perioada adultă, hepatopatia de grad mediu generând hepatocitoliză și stres oxidativ, alterarea pancreatică medie cu impact asupra metabolismului glucidic și inducerea intoleranței la glucoză cu rezistență periferică crescută la

insulină, și respectiv modificarea structurii cerebrale cu consecințe neurodegenerative pe termen lung, au reprezentat clasele majore de complicații materno-fetale generate de obezitatea maternă și sindromul metabolic pe perioada gestației. Am demonstrat faptul că aceste complicații pot fi parțial sau total reversate de implementarea unor strategii nutriționale, prin cercetarea efectelor administrării de suplimente alimentare și a dietei normocalorice, normolipidice asupra dezvoltării complicațiilor menționate. În aceste sens, **acizii grași Omega 3 au dovedit eficiența cea mai mare în ameliorarea aspectelor patologice întâlnite la nivel hepatic și cerebral, în timp ce fructele de cătină au îmbunătățit semnificativ funcția placentară și pancreatică.**

Coroborând rezultatele obținute în urma studiului experimental, consider că **sindromul metabolic la gravidă poate fi definit ca alterarea severă a metabolismului glucido-lipidic, exprimată fenotipic prin adipozitate abdominală excesivă, hiperglicemie, dislipidemie, inflamație, stres oxidativ și alterări histologice ale principalelor organe materno-fetale cu rol metabolic.** Având în vedere implicarea puternică a sindromului metabolic în apariția morbidității materno-fetale ridicate, consider necesară implementarea precoce a intervențiilor terapeutice nutriționale materne. Restabilirea statusului energetic și nutrițional matern prin normalizarea indicilor cercetați, nu doar scăderea indicelui de masă corporală, are capacitatea de a reduce semnificativ complicațiile asociate sindromului metabolic în sarcină.

Ultimul scop al studiului a fost **identificarea existenței mecanismului de reprogramare genetică**, prin cercetarea descendenților de sex feminin ai mamelor din primul experiment la dietă obezogenă și aceleași intervenții nutriționale. S-a repetat astfel experimentul prin utilizarea puilor obținuți anterior ca mame în al doilea experiment. Administrarea de suplimente nutriționale, în special a acizilor grași Omega 3 și a fructelor de cătină, a demonstrat astfel abilitatea de a reversa expresia fenotipică a alterărilor metabolice epigenetice induse de obezitatea maternă la aceste femele. **Rezultatele biochimice, ale markerilor inflamatori și de stres oxidativ, valorile adipokinelor și examenul histopatologic confirmă fenomenul de reprogramare epigenetică**, prin efectul de scădere a alterărilor biochimice, a peroxidării lipidice, normalizarea valorilor și raportului principalelor adipokine și reversarea leziunilor histologice. Acest aspect suține încă o dată necesitatea intervenției prompte în tratarea obezității și sindromului metabolic la gravidă, efectele unor măsuri facile precum administrarea de suplimente nutriționale fiind substanțiale pentru sănătatea materno-fetală.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

American College of Obstetricians and Gynecologists. Obesity in pregnancy. Committee Opinion Number 549, January 2013 (Replaces Committee Opinion Number 315, September 2005). *Obstet Gynecol* 2013;121:213-7.

Barker DJP. The fetal and infant origins of adult disease. *BMJ* 1990; 301(6761):1111.

Breier BH, Vickers MH, Ikenasio BA, Chan KY, Wong WPS. Fetal programming of appetite and obesity. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Volume 185, Issues 1–2, 20 December 2001, Pages 73–7.

Brietzkke SA. Controversy in diagnosis and management of the metabolic syndrome. *Med Clin North Am.* 2007;91:1041–1061. vii-viii.

Comandașu DE, Brătilă E, Cîrstoiu MM, Berceanu C, Mehedințu C, Vîrgolici B, Constantinescu M, Mohora M, The role of adipose tissue as endocrine organ in the metabolic programming of fetuses derived from obese mothers, *Gineco.eu*, vol 11, no 42, 4/2015, pp 186-189.

Comandașu DE, Mohora M, Vîrgolici B, Mehedințu C, Berceanu C, Cîrstoiu M, Brătilă E, Maternal-Fetal Metabolism Disorders Induced by Maternal Obesity in an Animal Model. *Acta Endo (Buc).* 2016; 12: 407-412. DOI:10.4183/aeb.2016.407, ISSN (print): 1841-0987, ISSN (online): 1843-066X.

Cottrell EC, Ozanne SE. Early life programming of obesity and metabolic disease. *Physiology & Behavior*, Volume 94, Issue 1, 22 April 2008, Pages 17–28.

Herman JB, Goldbourt U. Uric acid and diabetes: observations in a population study. *Lancet.* 1982;2:240–243.

Heslehurst N, Rankin J, Wilkinson JR, Summerbell CD. A nationally representative study of maternal obesity in England, UK: trends in incidence and demographic inequalities in 619 323 births, 1989–2007. *Int J Obes* 2010; 34(3): 420–428.

Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes care.* 2005;28:2289–2304.

Kylin E. Studies of the hypertension-hyperglycemia-hyperuricemia syndrome. Studien uber das Hypertonie-Hyperglykamie-hyperurikamiesyndrome. Zentralblatt fur innere Medizin. 1923;44:105–127.

Phillips GB. Relationship between serum sex hormones and glucose, insulin and lipid abnormalities in men with myocardial infarction. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1977;74:1729–1733.

Rasmussen KM, Yaktine AL. Weight Gain During Pregnancy: Reexamining the Guidelines. Institute of Medicine (US) and National Research Council (US) Committee to Reexamine IOM Pregnancy Weight Guidelines, Washington DC: National Academies Press (US) 2009: 124-128.

Reaven GM. Banting Lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. 1988. Nutrition. 1997;13:65. discussion 4, 6.

Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. Circulation. 2002;106:3143–3421.

Weaver JR, Susiarjo M, Bartolomei MS. Imprinting and epigenetic changes in the early embryo. Mamm Genome 2009; 20: 532–543.

World Health Organization. Fact Sheet no. 311. Geneva: WHO; 2006.

World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation (WHO Technical Report Series 894). WHO; 2000. ISBN: 92 4 120894 5.

LISTA DE PUBLICAȚII

Articole ISI cu factor de impact

1. **Comandașu DE**, Mohora M, Vîrgolici B, Mehedințu C, Berceanu C, Cîrstoiu M, Brătilă E, Maternal-Fetal Metabolism Disorders Induced by Maternal Obesity in an Animal Model. Acta Endo (Buc). 2016; 12: 407-412. DOI:10.4183/aeb.2016.407, ISSN (print): 1841-0987, ISSN (online): 1843-066X.

Articole ISI fără factori de impact

1. **Diana-Elena Comandașu**, Elvira Brătilă, Ruxandra Stănculescu, Monica Mihaela Cîrstoiu, Daniela Miricescu, Daniela Lixandru, Bogdana Vîrgolici, Maria Mohora, Adverse fetal metabolic phenotype induced by maternal obesity – a new concept. 49th Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation, Proceedings of ESCI, Monduzzi Editore International Proceedings Division, pp. 133-138, ISBN 978-88-7587-719-4.
2. **Comandașu D.-E.**, Brătilă E., Constantinescu M., Vîrgolici B., Mohora M., Vlădăreanu S., Mehedințu C., Berceanu C, Experimental study of metabolic programming induced by maternal obesity. Giornale Italiano di Ostetricia e Ginecologia, Bisemetrare – volume XXXVIII, Gennaio-Febbraio 2016, The 17-th World Gynecological Endocrinology Congress, pp. 68-71, ISSN 0391-9013.

Articole BDI, B+, CNCSIS

1. **D.E. Comandașu**, E. Brătilă, M.M. Cîrstoiu, C. Berceanu, C. Mehedințu, B. Vîrgolici, M. Constantinescu, M. Mohora, The role of adipose tissue as endocrine organ in the metabolic programming of fetuses derived from obese mothers, Gineco.eu, vol 11, no 42, 4/2015, pp 186-189.
2. Elvira Brătilă, Gabriela Iacob, **Diana-Elena Comandașu**, Mihai Mitran, Monica Mihaela Cîrstoiu, Roxana Bohîlțea, Costin Berceanu, Claudia Mehedințu, Simona Vlădăreanu,

The influence of gestational diabetes on fetal development, Gineco.eu [12] 183-186 [2016], DOI: 10.18643/gie.u.2016.183.

Cărți și capitole din cărți

1. Ghiduri și Protocoale în Medicina Materno-Fetală și Obstetrică, Set 2-Volume (Colecția Medicină Materno-Fetală), ediția a treia, Editor Vincenzo Berghella, Coordonatorul ediției în limba română și autor Capitol 3, Volum I – Obezitatea, **Diana-Elena Comandașu**, Editura Hipocrate, 2019, București, ISBN 9780957149946.
2. Actualități în Obstetrică - Ginecologie și Neonatologie, Claudia Mehedințu, Simona Vlădăreanu, autor unic Capitol "Obezitatea în sarcină" **Diana-Elena Comandașu**, Editura Universitară "Carol Davila", 2017, București, ISBN 978-973-708-937-3.

Participări la Congrese și Conferințe Internaționale

1. **Diana-Elena Comandașu**, Elvira Brătilă, Ruxandra Stănculescu, Monica Mihaela Cîrstoiu, Daniela Miricescu, Daniela Lixandru, Bogdana Vîrgolici, Maria Mohora, Adverse fetal metabolic phenotype induced by maternal obesity – a new concept. 49th Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation, Cluj-Napoca, România, Proceedings of ESCI, Monduzzi Editore International Proceedings Division, ISBN 978-88-7587-719-4, pp. 133-138, **Poster premiat la Secțiunea boli mitocondriale**
2. **D.E. Comandașu**, E. Brătilă, M.M. Cîrstoiu, C. Berceanu, D. Lixandru, D. Miricescu, M. Constantinescu, B. Vîrgolici, M. Mohora & E. Gubceac, Effect of Sea buckthorn supplementation on improving the maternal-fetal lipid metabolism alterations induced by pregnancy obesity, 50th Annual Scientific Meeting of the European Society For Clinical Investigation, 27-29 Aprilie 2016, Paris, Franța, European Journal of Clinical Investigation Volume 46, Issue S1, Abstracts of the 50th Annual Scientific Meeting of

the European Society for Clinical Investigation Paris, <https://doi.org/10.1111/eci.12603>,
Poster premiat la Secțiunea boli mitocondriale

3. **D.-E. Comandașu**, M. Mohora, B. Vîrgolici, D. Lixandru, C. Mehedințu, C. Berceanu, M. Cîrstoiu, E. Brătilă, Omega 3 versus Omega 6 fatty acids supplementation in obese pregnant rats – understanding the discrepant fetal prognosis, 51st Annual Scientific Meeting of the European Society For Clinical Investigation, Genoa, Italia, 17-19 Mai 2017, Abstracts of the 51st Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation, European Journal of Clinical Investigation, Mai 2017, Volume 47, Issue Supplement S1, Page 98, DOI: 10.1111/eci.12749
4. **D.-E. Comandașu**, M. Mohora, B. Vîrgolici, D. Lixandru, C. Mehedințu, C. Berceanu, M. Cîrstoiu, E. Brătilă, Gestational diabetes as long-term negative predictive factor for the descendants – experimental model, 51st Annual Scientific Meeting of the European Society For Clinical Investigation, Genoa, Italia, 17-19 Mai 2017, Abstracts of the 51st Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation, European Journal of Clinical Investigation, Mai 2017, Volume 47, Issue Supplement S1, Page 94, DOI: 10.1111/eci.12749
5. **Diana-Elena Comandașu**, Bogdana Vîrgolici, Maria Mohora, Claudia Mehedințu, Costin Berceanu, Elvira Brătilă, Maternal polyunsaturated fatty acids dietary supplementation improves obstetrical outcome, 52nd Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation, 30 Mai – 1 Iunie 2018, Barcelona, Spania, Abstracts of the 52nd Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation “Precision medicine for healthy ageing”, The European Journal Of Clinical Investigation, Volume 48, Issue S 1, <https://doi.org/10.1111/eci.12926>
6. **Diana-Elena Comandașu**, Bogdana Vîrgolici, Maria Mohora, Claudia Mehedințu, Costin Berceanu, Elvira Brătilă, The importance of the intrauterine environment on longevity - gestational obesity as prediction factor for reduced lifespan in descendants, 52nd Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation, 30 Mai – 1 Iunie 2018, Barcelona, Spania, Abstracts of the 52nd Annual Scientific Meeting

of the European Society for Clinical Investigation “Precision medicine for healthy ageing”, The European Journal Of Clinical Investigation, Volume 48, Issue S 1, <https://doi.org/10.1111/eci.12926>

7. **Diana-Elena Comandașu**, Maria Mohora, Bogdana Vîrgolici, Claudia Mehedințu, Costin Berceanu, Elvira Brătilă, Decreased life expectancy of descendants induced by intrauterine environmental alteration in gestational obesity, 53rd Annual Meeting of the European Society for Clinical Investigation, 22-24 Mai 2019, Coimbra, Portugalia, Abstracts of the 53rd Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation, The European Journal Of Clinical Investigation, Volume 49, Issue S 1, <https://doi.org/10.1111/eci.12926>
8. **Diana-Elena Comandașu**, Maria Mohora, Bogdana Vîrgolici, Claudia Mehedințu, Costin Berceanu, Elvira Brătilă, Altered neurological fetal prognosis caused by gestational obesity in an animal model 53rd Annual Meeting of the European Society for Clinical Investigation, 22-24 Mai 2019, Coimbra, Portugalia, Abstracts of the 53rd Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation, The European Journal Of Clinical Investigation, Volume 49, Issue S 1, <https://doi.org/10.1111/eci.12926>
9. **D.E. Comandașu**, E. Brătilă, B Vîrgolici, H Vîrgolici, E. Gubceac, C. Berceanu, C. Mehedințu, M. Constantinescu, D. Lixandru, D. Miricescu, M. Mohora, Multiple organ dysfunctions in offspring of obese mothers-experimental study, XXV European Congress Perinatal of Medicine, 2016, Maastricht, J Matern Fetal Neonatal Med, 2016; 29(S1): 1–317, pg. 96, ISSN: 1476-7058 (print), 1476-4954 (electronic).
10. **Diana-Elena Comandașu**, Bogdana Vîrgolici, Maria Mohora, Costin Berceanu, Claudia Mehedințu, Elvira Brătilă, Maternal obesity - a negative long-term prognostic factor for the offspring, European Menopause and Andropause Society Conference, Mai 2017, Amsterdam, Olanda, Maturitas 100 (2017) 93–202, pp126, Jump08, ISSN: 0378-5122, **Prezentare orală câștigătoare a Programului Junior Mentorship 2017**

11. **Diana-Elena Comandașu**, Bogdana Vîgolici, Maria Mohora, Diana Mihai, Ciprian Coroleucă, Cătălin Coroleucă, Dimitros Goulis, Elvira Brătilă, Obesity and diabetes in adulthood caused by intrauterine programming - could it be reversed? European Menopause and Andropause Society Conference, Mai 2019, Berlin, Maturitas, Volume 124, 134, <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2019.04.078>, **Prezentare orală câștigătoare a Programului Junior Mentorship 2019**
12. **Diana-Elena Comandașu**, Elvira Brătilă, Bogdana Vîgolici, Maria Mohora, Ruxandra Stănculescu, Experimental study of fetal metabolic programming induced by maternal obesity, International Society of Gynecological Endocrinology the 17th World Congress, Martie 2016, Gynecol Endocrinol, 1–163, DOI: 10.3109/09513590.2016.1150635, **Prezentare orală câștigătoare a Programului de Scholarship**
13. **D. Comandașu**, D. Mihai, B. Vîgolici, M. Mohora, E. Brătilă, Pregnancy related diabetes and poor fetal outcome: the key role of inflammation, International Society of Gynecological Endocrinology the 18th World Congress, 7 -10 Martie 2018, Florența, Italia, Abstract Book, **Prezentare orală câștigătoare a Programului de Scholarship**
14. **Diana-Elena Comandașu**, Costin Berceanu, Claudia Mehedințu, Monica Cîrstoiu, Cătălin Coroleucă, Elvira Brătilă, The impact of maternal obesity on placental physiology and fetal development, World Congress of Perinatal Medicine, 26-29 Octombrie 2017, Belgrad, Serbia
15. **D. E. Comandașu**, E. Brătilă, B. Vîgolici, H. Vîgolici, E. Gagniuc, C. Berceanu, C. Mehedințu, M. Constantinescu, D. Miricescu, D. Lixandru, M. Mohora, Multiple organ dysfunctions in offspring of obese mothers - experimental study, XXV European Congress of Perinatal Medicine, 15-18 Iunie 2016, Maastricht, Olanda, J Matern Fetal Neonatal Med, 2016; 29(S1): 1–317, DOI: 10.1080/14767058.2016.1191212
16. C. Berceanu, S. Vlădăreanu, E. Brătilă, M. M. Cîrstoiu, V. Gheorman, C. Mehedințu, R. Ciortea, **D. Comandașu**, S. Berceanu, Prenatal diagnosis and types of structural congenital malformations in diabetic pregnancy – a tertiary multicentric study, XXV

European Congress of Perinatal Medicine, 15-18 Iunie 2016, Maastricht, Olanda, J Matern Fetal Neonatal Med, 2016; 29(S1): 1–317, DOI: 10.1080/14767058.2016.1191212

17. E. Brătilă, **D. E. Comandașu**, G. Iacob, C. Teodorescu, M. Cîrstoiu, R. Bohîlțea, C. Berceanu, C. Mehedințu, Gestational diabetes and pregnancy morbidity and outcome, XXV European Congress of Perinatal Medicine, 15-18 Iunie 2016, Maastricht, Olanda, J Matern Fetal Neonatal Med, 2016; 29(S1): 1–317, DOI: 10.1080/14767058.2016.1191212
18. **D.E. Comandașu**, M. Mohora, B. Vîrgolici, C. Mehedințu, C. Berceanu, E. Brătilă, The link between diabetes in pregnancy and poor metabolic fetal prognosis, XXVI European Congress of Perinatal Medicine, 5-8 Septembrie 2018, Sankt Petersburg, Rusia, Abstract Book
19. **Diana-Elena Comandașu**, Bogdana Vîrgolici, Maria Mohora, Claudia Mehedințu, Costin Berceanu, Diana Mihai, Ciprian Andrei Coroleucă, Cătălin Bogdan Coroleucă, Elvira Brătilă, The implications of maternal obesity on neurological fetal prognosis, 14th International Academy of Perinatal Medicine Conference and 34th Fetus as a Patient International Congress, 17-19 Mai 2018, București, Revista Ginecologia 6(20)1-36(Supplement), **Premiul I la Secțiunea Postere orale**
20. **Diana-Elena Comandașu**, Maria Zinaida Constantinescu, Bogdana Vîrgolici, Daniela Lixandru, Laura Anca Popescu, Elvira Brătilă, Muscurel Corina, Maria Mohora, Importance of obesity on lipid placental peroxidation and on metabolic profile in Wistar females with diet-induced obesity, The first Congress of the Romanian Association of Laboratory Medicine with International Participation (RAML), 20-23 Mai 2015, Sighișoara
21. Maria Zinaida Constantinescu, **Diana Comandașu**, Bogdana Vîrgolici, Daniela Lixandru, Daniela Miricescu, Laura Popescu, Horia Vîrgolici, Maria Mohora, Influence of the obesity duration on the visceral fat in wistar female mice and on tissue lipid

peroxidation, The first Congress of the Romanian Association of Laboratory Medicine with International Participation (RAML), 20-23 Mai 2015, Sighișoara

22. Constantinescu ZM, Virgolici B, **Comandașu D**, Miricescu D, Lixandru D, Popescu L, Greabu M, Mohora M, Antioxidant effects of sea buckthorn fruit in high fat diet rat model, The Romanian Society of Biochemistry and Molecular Biology, 25 years of promoting molecular life sciences in Romania, 17-18 Septembrie 2015, București, The book of RSBMB International Conference 2015, pp. 80, p2.5, Agir publishing house, ISBN 978-973-720 605-3
23. Maria Zinaida Constantinescu, **Diana Comandașu**, Bogdana Virgolici, Daniela Lixandru, Daniela Miricescu, Laura Popescu, Horia Virgolici, Maria Mohora, Nigella Sativa supplement in obese wistar rats during pregnancy improve offspring development, Revista Română de Medicină de Laborator, supliment vol 24 nr 1, Martie 2016, Cluj-Napoca, ISSN 1841-6624.

Participări la Congrese și Conferințe Naționale

1. **Diana Comandașu**, Maria Zinaida Constantinescu, Bogdana Virgolici, Daniela Miricescu, Daniela Lixandru, Elvira Gagniuc, Laura Popescu, Horia Virgolici, Maria Mohora, Ficat gras și leziuni minore cardiace și renale la nou născuții mamelor Wistar obeze, Al 10-lea Congres Anual al Asociației Medicale Române, Academia Română, 25-27 Aprilie 2016, București
2. **D.E. Comandașu**, E. Brătilă, R. Stănculescu, D. Lixandru, B. Virgolici, M. Mohora Effect of supplements on placental lipid peroxidation and fetal growth in rat females with diet-induced obesity, Forum Ginecologia.ro, 22-23 Mai 2015, București, România, Ginecologia.ro Journal, Supliment, ISSN 2457-3566, ISSN-L 2344-2301
3. **Diana-Elena Comandașu**, Bogdana Virgolici, Maria Mohora, Claudia Mehedințu, Costin Berceanu, Mihai Mitran, Elvira Brătilă, The importance of the intrauterine environment on longevity - gestational obesity as prediction factor for reduced lifespan in

descendants, Congresul Universității de Medicină și Farmacie Carol Davila, 7-9 iunie 2018, București, Revista Maedica, a Journal of Clinical Medicine, Supplemement, 2018, **Premiul Young Investigator Award, Specialități chirurgicale**

4. Maria Zinaida Constantinescu, **Diana Comandașu**, Bogdana Vîrgolici, Daniela Miricescu, Daniela Lixandru, Elvira Gagniuc, Laura Popescu, Horia Vîrgolici, Maria Mohora. Aspecte biochimice și histopatologice ale pancreasului la decendenții gravidelor obeze aflate pe dietă grasă asociată cu diferite suplimente, Al 10-lea Congres Anual al Asociației Medicale Române, Academia Română, 25-27 Aprilie 2016, București
5. Laura Popescu, Daniela Miricescu, Maria Zinaida Constantinescu, **Diana Comandașu**, Bogdana Virgolici, Daniela Lixandru, Horia Virgolici, Maria Mohora, The effects of the polyunsaturated fatty acids from the breast feed milk on the heart oxidative stress status and metabolic profile of their offsprings – a comparative study in wistar rats, Congresul Universității de Medicină și Farmacie “Carol Davila”, Revista Maedica, a Journal of Clinical Medicine, Supplemement, 2015, 28-31 Mai 2015, București
6. Maria Zinaida Constantinescu, **Diana Comandașu**, Bogdana Vîrgolici, Daniela Lixandru, Daniela Miricescu, Laura Popescu, Horia Vîrgolici, Maria Mohora, Influența dietei la femelele Wistar obeze asupra stresului oxidativ cerebral la decendenții lor - un studiu comparativ, Al 9lea Congres Anual al Asociației Medicale Române, București 16-18 aprilie 2015, Aula Academiei Române, ISSN 1220-5478, **Poster premiat**
7. Ruxandra Stănculescu, Elvira Brătilă, **Diana Comandașu**, Vasilica Baușic, Impactul obezității materne asupra funcției placentare și dezvoltării fetale, Forum Ginecologia 2017, Editia a IV-a, 24-25 Martie 2017, București, RevistaGinecologia5(15)62-100(2017)