



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
GRIGORE T. POPA IAȘI

**RELAȚIA DINTRE DIFERENȚIEREA
PRE-ADIPOCITELOR ȘI
SINDROMUL METABOLIC LA
PACIENȚII OBEZI ADRESAȚI
PENTRU CHIRURGIE BARIATRICĂ**

**REZUMATUL TEZEI DE
DOCTORAT**

Coordonator,
Prof. Dr. Veronica MOCANU

Doctorand,
Ioana SACARĂ (HRISTOV)

2019

Teza de doctorat cuprinde o parte generală structurată sub forma a 7 capitole, însumând 42 de pagini, partea personală alcătuită din 6 capitole însumând 81 de pagini, 95 de figuri și 21 de tabele, 360 de referințe bibliografice și o anexă.

Cuprinsul și abrevierile sunt păstrate așa cum se regăsesc în teza de doctorat, iar figurile și tabelele selectate pentru rezumat, păstrează numerotarea din cadrul tezei .

Cuvinte cheie: obezitate, sindrom metabolic, țesut adipos, celule stem mezenchimale, diferențiere adipogenică , culturi celulare in vitro.

CUPRINS

Nr.		pag
	LISTĂ DE ABREVIERI	iv
	INTRODUCERE	1
	STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	2
Cap. 1	DATE GENERALE PRIVIND OBEZITATEA ȘI SINDROMUL METABOLIC	2
1.1.	Obezitatea – definiție și impact epidemiologic	2
1.2.	Sindromul metabolic asociat obezității	5
1.2.1.	Criterii de diagnostic și patogeneză	5
1.2.2.	Stratificarea riscului cardio-metabolic pentru pacienții obezi	7
1.2.3.	Evoluția pe termen lung a sindromului metabolic în populația obeză	10
Cap. 2	TRATAMENTUL OBEZITĂȚII. ROLUL CHIRURGIEI BARIATRICE	11
2.1.	Indicațiile chirurgiei bariatrice	11
2.2.	Contraindicațiile chirurgiei bariatrice	12
2.3.	Procedurile de elecție pentru chirurgia bariatrică	12
Cap. 3	ȚESUTUL ADIPOS: ENTITATE METABOLICĂ ȘI ENDOCRINĂ ACTIVĂ ÎN OBEZITATE	14
3.1.	Aspecte generale	14
3.2.	Tipuri de țesut adipos	14
3.3.	Localizarea depozitelor de țesut adipos. Relația cu statusul metabolic .	15
3.4.	Țesutul adipos alb-structură celulară	17
3.5.	Funcția endocrină a țesutului adipos	19
Cap. 4	MECANISME FIZIOPATOLOGICE ALE SINDROMULUI METABOLIC ASOCIAT OBEZITĂȚII	23
4.1.	Dislipidemia	23

4.2.	Rezistența la insulină	24
4.3.	Infламаția cronică. Relația cu sindromul metabolic asociat obezității .	26
4.4.	Stresul oxidativ în infламаția adipocitară cronică	27
Cap. 5	PARTICULARITĂȚI HISTOLOGICE ALE ȚESUTULUI ADIPOS SUBCUTANAT ÎN OBEZITATE	29
Cap. 6	PROCESUL DE ADIPOGENEZĂ	31
6.1.	Reglarea transcripțională a procesului de adipogeneză	31
Cap. 7	DISFUNCTIA PROCESULUI DE ADIPOGENEZĂ ÎN OBEZITATE	34
7.1.	Reducerea ratei de proliferarea precursorilor liniei adipocitare în obezitate	34
7.2.	Disfuncția căii de diferențiere pe cale adipogenă a pre-adipocitelor în obezitate	35
7.3.	Disfuncția reticulului endoplasmic și apoptoza adipocitară	36
7.4.	Modele experimentale utilizate pentru evaluarea tulburărilor adipogenezei în obezitate	36
CONTRIBUȚII PERSONALE		42
Cap. 8	MOTIVAȚIA ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI	42
Cap. 9	MATERIAL ȘI METODE	44
9.1.	Studiul 1. Studiul clinic, biochimic și hormonal al pacienților obezi adresați pentru chirurgie bariatrică. Analiza prospectivă (2015-2017) .	44
9.2.	Studiul 2. Evaluarea histologică a fragmentelor de țesut adipos subcutanat-analiza particularităților morfologice ale celulelor adipoase la pacienții obezi	47
9.3.	Studiul 3. Evaluarea experimentală a capacității de diferențiere adipogenică a ASCs subcutanate.....	51
Cap. 10	REZULTATE	64
10.1.	Studiul clinic, biochimic și hormonal al pacienților obezi adresați pentru chirurgie bariatrică. Analiza prospectivă (2015-2017)	64
10.1.1.	Criteriul sindromului metabolic (MetS) pentru lotul de pacienți	64
10.1.2.	Evaluare statistică descriptivă a loturilor	64
10.1.3.	Evaluare statistica-analiză comparativă	66

10.1.4	Evaluare comparativă pentru cele 2 sexe	67
10.1.5	Analiza factorilor de risc pentru sindromul metabolic	70
10.1.6.	Analiza statistică de corelație	81
10.2.	Evaluarea histologică a fragmentelor de țesut adipos subcutanat	82
10.2.1.	Analiza statistică descriptivă	82
10.2.2.	Analiza statistică comparativă	83
10.2.3.	Analiza statistică de corelație	86
10.2.4.	Analiza statistică de regresie	88
10.3.	Rezultatele evaluării experimentale a capacității de diferențiere adipogenică a ASCs subcutanate	90
10.3.1.	Diferențierea pe cale adipogenă a celulelor stem mezenchimale	90
10.3.2.	Particularitățile diferențierii adipogenice la lotul de studiu	92
10.3.3.	Evaluarea statistică a datelor obținute privind acumularea lipidică	93
10.3.4.	Analiza de corelație	98
10.3.5.	Analiza statistică de regresie	103
Cap. 11	DISCUȚII	105
11.1.	Studiul clinic, biochimic și hormonal al pacienților obezi adresați pentru chirurgie bariatrică. Analiza pro spectivă (2015-2017).....	107
11.2.	Studiul histologic al ariei adipocitare pe probe de țesut adipos subcutanat.....	111
11.3.	Studiul experimental al capacității de diferențiere adipogenică a ASCs subcutanate.....	119
Cap. 12	CONCLUZII	120
12.1	Studiul clinic, biochimic și hormonal al pacienților obezi adresați pentru chirurgie bariatrică. Analiza prospectivă (2015-2017).....	120
12.2	Evaluarea histologică a fragmentelor de țesut adipos subcutanat	121
12.3	Rezultatele evaluării experimentale a capacității de diferențiere adipogenică a ASCs subcutanate	122
Cap. 13	PERSPECTIVE. ELEMENTE DE ORIGINALITATE ALE TEZEI ...	123
	REFERINȚE BIBLIOGRAFICE	124
	ANEXE	

LISTĂ DE ABREVIERI

OMS – Organizația Mondială a Sănătății
IMC – Indicele de Masă Corporală
MetS – Sindrom Metabolic
HOMA-IR – Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance
ASCs – Adipose derived stem cells-celule stem derivate din țesutul adipos
RYGB – By-pass-ul gastric Roux-en-Y
LGS – Laparoscopic Gastric Sleeve
DMEM – Mediu Dulbecco's Modified Eagle
DMEM/F12 – Mediu Dulbecco's Modified Eagle + Ham's F-12 Mediu
FBS – Ser bovin fetal
IDF – International Diabetes Federation-Federația Internațională de Diabet
MHO – Metabolic Healthy Obese-Obezii metabolice sănătoși
SVF – Stromal Vascular Fraction-Fracția Stromal Vasculară
WAT – White Adipose Tissue-Tesutul Adipos Alb
CRP – C Reactive Protein – Proteina C reactivă
AMPK – adenosine monophosphate- protein kinaza activată
DAPI-4',6 – diamidino-2-fenilindol
PPAR- γ – peroxisome proliferator-activated receptor gamma

MOTIVAȚIA ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI DOCTORAL

Obezitatea reprezintă o problemă majoră de sănătate publică în societatea modernă, iar perspectivele sunt extrem de îngrijorătoare în condițiile trendului crescător al incidenței acestei boli atât în populația adultă, cât și în cea pediatrică. Implicațiile medicale sunt în principal legate de morbi-mortalitatea de cauză cardio-metabolică asociată obezității prin asocierea demonstrată cu sindromul metabolic, reprezentând o acumulare de factori de risc, care include hipertensiunea arterială, dislipidemia și diabetul zaharat tip 2.

Identificarea acestei surse etiopatogenice pentru fenomenele metabolice asociate obezității este extrem de ofertantă pentru cercetare, dezvăluind mecanisme și căi de diferențiere foarte complexe și versatile pentru adipocitele mature pornind de la precursori mezenchimali pluri-potenți.

Pentru pacienții obezi care acumulează factori de risc cardio-vascular grupați în cadrul noțiunii de sindrom metabolic, s-a ridicat ipoteza unei capacități limitate de expansiune a țesutului adipos, o alterare a capacității de diferențiere pe cale adipogenică și deci o limitare a capacității de a stoca excesul lipidic în depozitele adipoase ceea ce determină acumularea acestora la nivel visceral sau înalte localizări ectopice (Heilbronn L et al., 2011). Hipertrofia adipocitară, inflamația în țesutul adipos și disfuncția adipocitelor pot fi posibile manifestări sau mecanisme în spatele acestei tulburări de stocare. Aceste funcții adipocitare pot avea un determinism genetic.

În această direcție reglarea complexă a căii de transcripție a adipogenezei și comunicarea auto și paracrină prin intermediul diverselor adipokine reprezintă o abordare modernă și revelatoare în ceea ce privește înțelegerea și abordarea sindromului metabolic asociat obezității.

Această teză urmărește modificările căilor biologice din țesutul adipos care duc la apariția complicațiilor metabolice în obezitate.

Prin această lucrare de doctorat ne-am propus să urmărim o serie de obiective de studiu precum:

-Evaluarea profilului metabolic și a nivelului seric al adipokinelor: adiponectină și leptină la pacienții obezi și evaluarea particularităților acestor dozări pentru subgrupurile de pacienți obezi cu sau fără sindrom metabolic asociat.

-Evaluarea morfologiei și ariei adipocitelor din țesutul adipos subcutanat al pacienților obezi în relație cu profilul metabolic al acestora;

-Identificarea particularităților adipogenezei la pacienții obezi și demonstrarea impactului major al capacității celulelor precursorale ale liniei adipocitare (de tip mezenchimal) de a genera noi adipocite mature, capabile să stocheze eficient lipide în determinismul afecțiunilor metabolice asociate obezității;
-Deschiderea de noi perspective în înțelegerea procesului de adipogeneză și a modificărilor, care survin în obezitate, cu potențial de țintă farmacologică ce ar permite controlul complicațiilor metabolice extrem de grave asociate obezității, devenite o problemă majoră de sănătate publică la nivel global.

MATERIAL ȘI METODE

Prezenta teză de doctorat a fost organizată sub forma a 3 studii, incluzând:

- **Studiul Nr.1** –studiu clinic prospectiv ce prezintă date clinice-antropometrice, tablou biochimic extins și tablou hormonal centrat pe dozarea leptinei, adiponectinei și al raportului leptină/adiponectină în serul pacienților obezi adresați pentru chirurgie bariatrică în relație cu sindromul metabolic definit prin criteriile IDF.

Studiul a inclus un număr de 106 pacienți obezi.

Parametrii clinici și biologici studiați

1) *Evaluare clinică și antropometrică* include: măsurarea Taliei (cm), Greutatea corporală (kg), calcularea IMC (kg/m^2).2) *Evaluare paraclinică*: bilanț biochimic, hormonal, inflamator și nutrițional: Evaluarea parametrilor biochimici în serul pacienților la momentul intervenției chirurgicale .Bilanțul hormonal: TSH, fT4, fT3 (profilul hormonal tiroidian), Cortizol matinal (ora 9:00), Insulinemie, Peptid C .3) *Indici de evaluare a statusului metabolic*:Rezistența la insulină (HOMA-IR) – Indicele HOMA se calculează din nivelurile bazale ale glicemiei și insulinei după formula: $\text{HOMA-IR} = (\text{insulină } (\mu\text{U/mL}) \times \text{glicemie } (\text{mg/dL}))/405$.

Pe baza fracțiilor lipidice dozate pentru lotul nostru de pacienți obezi, s-au calculat următorii indici:Colesterol total/HDL –colesterol (Indicele Castelli), Trigliceride/HDL colesterol (Indicele Reaven).

4) Dozarea adiponectinei și leptinei prin tehnica ELISA

Studiul Nr 2 este un studiu histologic ce a inclus 23 de pacienți obezi pentru care s-au recoltat probe de țesut adipos subcutanat, incluse la parafină, secționate și colorate hematoxilina-eozină pentru care s-a evaluat prin microscopie optică automatizată achiziția și ulterior analiza cu software dedicat al ariei adipocitare în relație cu sindromul metabolic definit prin criteriile IDF. În urma evaluării imaginilor cu secțiunilor de țesut adipos

subcutanat s-au obținut imagini de histologie a țesutului adipos subcutanat pentru lotul de studiu (figura 9.5).

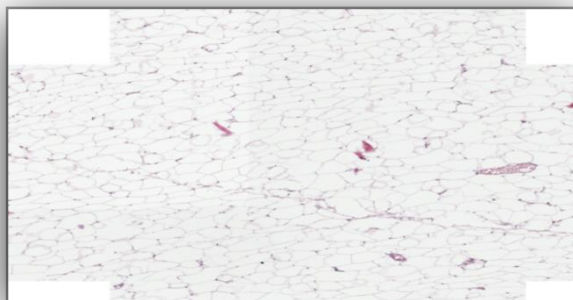


Fig. 9.5. Secțiune de țesut adipos cu aria de $380 \mu\text{m}^2$, achiziție la rezoluție înaltă cu obiectiv 20x Air.

Pe baza imaginilor obținute s-a realizat prin software-ul de analiză Adiposoft măsurarea automatizată a dimensiunilor adipocitare și se obține, astfel, în format Excel estimarea ariei adipocitelor analizate, media și deviația standard calculate pentru valorile respective, pentru fiecare secțiune analizată. Se obține pentru fiecare pacient inclus în studiu o valoare medie a ariei adipocitelor subcutanate, ce va fi introdusă în analiza statistică în corelație cu parametrii clinici și paraclinici.

- **Studiul Nr 3 este un studiu experimental**, ce a presupus evaluarea capacității de diferențiere in vitro al precursorilor mezenchimali adipocitari izolați din țesutul adipos subcutanat al pacienților obezi, pe cale adipogenă și relația cu sindromul metabolic. S-au analizat 23 de probe de țesut adipos subcutanat: 20 probe de la pacienți obezi și respectiv 3 probe de țesut adipos subcutanat de la pacienți normoponderali. Din probele de țesut adipos subcutanat au fost izolate celulele stem mezenchimale pluripotente și s-a urmărit proliferarea și diferențierea lor in vitro către adipocite mature, în mediu de cultură adipogenic specific. S-au evaluat comparativ datele obținute de la pacienții obezi față de cei normoponderali (control) dar și între pacienții obezi cu sindrom metabolic asociat și cei fără afectare metabolică.

Izolarea și proliferarea celulelor stem mezenchimale derivate din țesutul adipos

Celulele mezenchimale derivate din țesutul adipos (Adipose Derived Stem Cells-ASCs) vor fi izolate conform unui protocol specific, descris în literatură (Karen M. Lyons-UCLA, 2008).

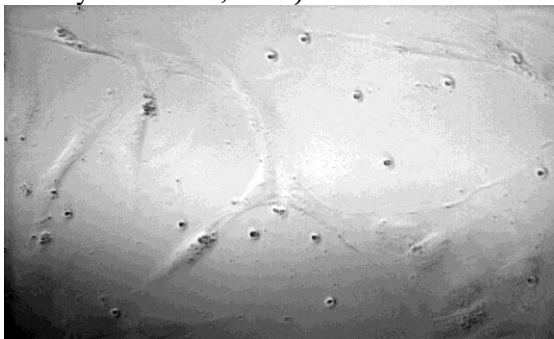


Fig. 9.13. Celula stem mezenchimala izolată (Ziua 3) din țesutul adipos subcutanat al pacienților obezi

Numărul mic de celule la incubare și dispersarea lor în godeul de cultură au condus la o creștere și proliferare lentă față de datele din literatură (Mok PL, 2008), de aproximativ 4 săptămâni până la obținerea unei confluențe de 80-90%.

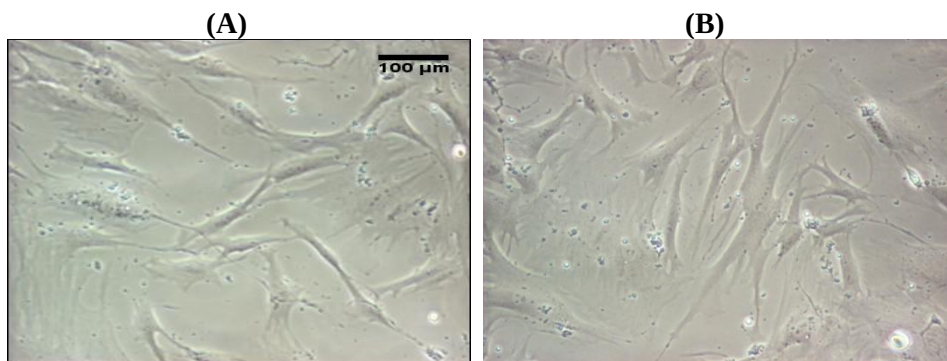


Fig. 9.14. Protocol de proliferare a ASCs izolate din țesutul adipos subcutanat. A. Urmărirea proliferării ASCs Ziua 6-microscopie mod brightfield („câmp luminos”)- -20x

B. Urmărirea proliferării ASCs Ziua 9- microscopie mod brightfield („câmp luminos”)- -20x

Diferențierea adipogenică a ASCs confluențe

Acumularea progresivă de lipide se observă cu ajutorul microscopului optic începând cu Z15 a protocolului de diferențiere adipogenică sub forma unor incluziuni refringente de dimensiuni variabile cu tendința la grupare sub formă de “ciorchine” după cum se poate observa în figura 9.20. Acumularea lipidică presupune vizualizarea în cultura celulară a incluziunilor lipidice, de obicei vizualizate cu ajutorul microscopiei optice în contrast de fază (PH2). Ciclul complet de diferențiere are o durată de 21 de zile. Implementarea și reproductibilitatea acestui protocol sunt elementele esențiale ale studiului nostru și reprezintă un important punct de plecare pentru cercetări ulterioare în acest domeniu.

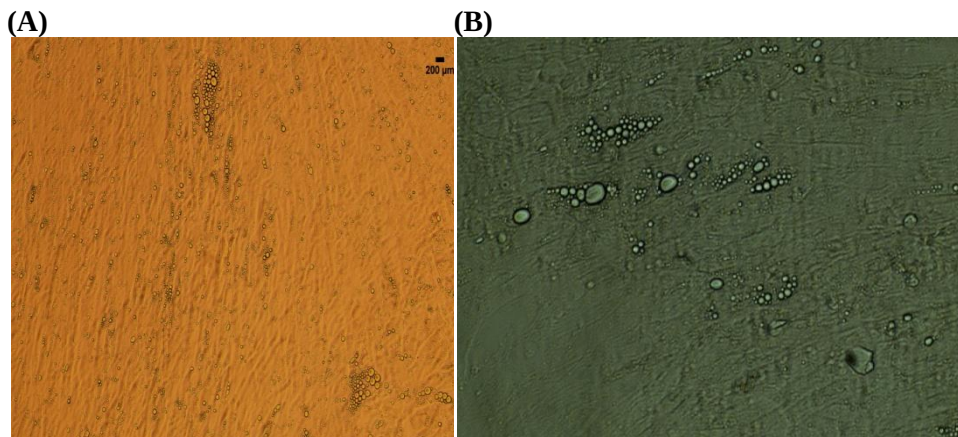


Fig. 9.20. Monitorizarea la microscopul optic a incluziunilor lipidice în cultura de ASCs diferențiate pe cale adipogenă. A) Protocol de adipogeneză – microscopie optică mod brightfield („câmp luminos”)– Ziua 14; B) Protocol de adipogeneză –microscopie optică în contrast de fază-PH2-Ziua 16;

Analiza statistică pentru cele 3 studii a fost efectuată cu ajutorul SPSS version 20.0 și a cuprins comparații între două sau mai multe categorii de variabile (testul t-student, Mann-Whitney, ANOVA), analiza de corelație (Pearson sau, respectiv, Spearman), analiza de regresie bivariată, multiplă și ierarhică. Pragul de semnificație a fost stabilit la un $p < 0.05$. Datele sunt exprimate ca medie $\pm$ eroare standard.

REZULTATE

Studiul Nr.1 -Studiu clinic, biochimic și hormonal al pacienților obezi adresați pentru chirurgie bariatrică.

Analiza prospectivă (2015-2017)

1)Evaluarea comparativă pe criteriul sindromului metabolic in lotul de pacienți obezi.

Parametri	Lot SM (n=64)	Lot nonSM (n=42)	p value
Vârsta (ani)	43,21±9,95	40,31±11,23	0,143
Sex Feminin n(%)	43 (67,6%)	38 (89,8%)	0,004
IMC, kg/m ²	43,02±8,37	38,68±9,85	0,012
Glicemie, mg/dl	123,57±47,24	91,72±11,40	0,001
Insulinemie, μUI/ml	26,04±18,36	16,47±9,74	0,001
HbA1c, %	6,16±0,88	4,80±1,58	0,001
HOMA-IR	9,40±7,00	4,43±3,72	0,001
Colesterol total, mg/dl	223,23±41,26	202,31±32,12	0,006
LDLc, mg/dl	148,62±32,73	136,36±29,65	0,050
HDLc, mg/dl	43,16±8,58	50,41±9,56	0,001
Trigliceride, mg/dl	208,20±99,33	106,06±38,74	0,001
TGO, UI/l	26,52±15,58	21,88±7,38	0,069
TGP, UI/l	40,09±26,83	28,87±15,07	0,014
CT/HDL	5,30±1,20	4,14±0,78	0,001
TSH, μUI/ml	2,60±2,44	3,09±2,53	0,324
FT4, pmol/l	1,04±0,15	1,09±0,15	0,147
FT3, pmol/l	4,34±1,03	4,70±1,10	0,134
Cortizol, μg/dl	12,64±3,94	11,20±3,92	0,061
Adiponectină, μg/dl	29,76±2,55	28,45±4,86	0,120
Leptină, mg/dl	26,54±9,30	27,08±10,84	0,811
Raport Leptina/Adiponectina	0.8777±0.308	1.045±0.353	0.05*

Tabel 10.2. Evaluarea comparativă a celor 2 sub-loturi de pacienți obezi în funcție de criteriile IDF pentru MetS

*marcarea parametrilor unde s-au obținut diferențe statistic semnificative

2) Evaluare statistica-analiză comparativă. Criteriul sindromului metabolic pentru metabolismul glucidic

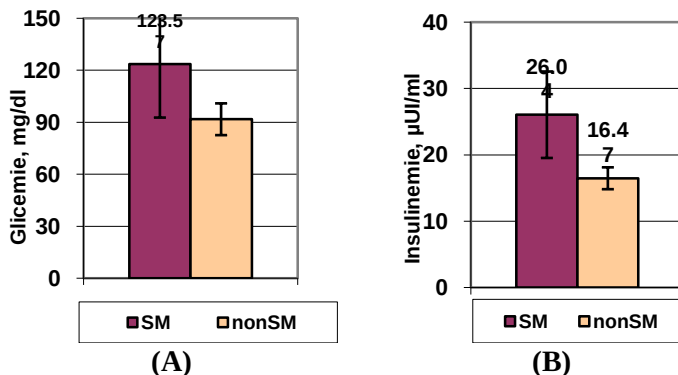


Fig. 10.5. Valori medii ale parametrilor metabolismului glucidic comparativ pe loturi de studiu

Astfel, se evidențiază un nivel mediu semnificativ mai crescut pentru insulinemie (30.01 vs 16.8; $p=0.001$), HOMA-IR (9.39 vs 4.48; $p<0.001$). Cu o sensibilitate de 83% și o specificitate de 60%, HOMA-IR poate fi bun predictor pentru sindromul metabolic (AUC=0,768; IC95%: 0,655-880), valoarea cut-off =3,35. (Fig. 10.17)

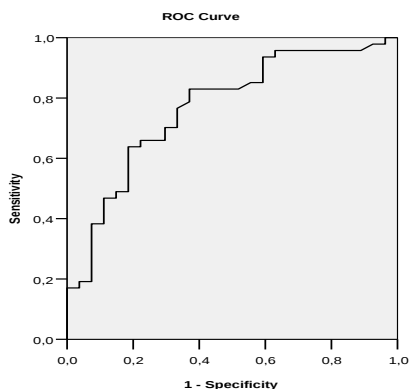


Fig. 10.17. Balanța sensibilitate /specificitate al HOMA-IR în determinismul sindromului metabolic

Prin trasarea curbei ROC se remarcă faptul că raportul leptină/adiponectina, cu o probabilitate de 65,8%, poate fi bun predictor în determinismul sindromului metabolic (AUC=0,658; IC95%: 0,437-0,699) (figura 10.31)

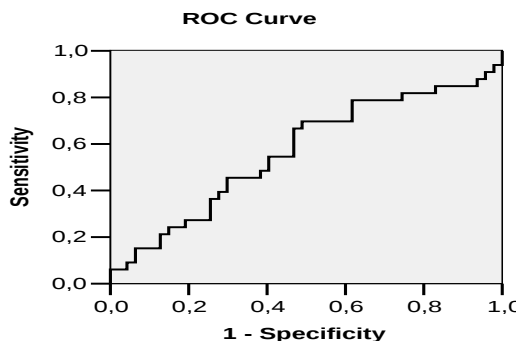


Fig. 10.31 Balanța sensibilitate/specificitate a raportului leptina /adiponectina în determinismul sindromului metabolic

Studiul Nr.2. Evaluarea histologică a secțiunilor de țesut adipos subcutanat-corelațiile ariei adipocitare

Aria medie a adipocitelor subcutanate a fost semnificativ mai crescută la pacienții obezi cu sindrom metabolic (3200 vs $1289 \mu\text{m}^2$; $p=0,001$) față de cei care nu întrunesc aceste criterii.

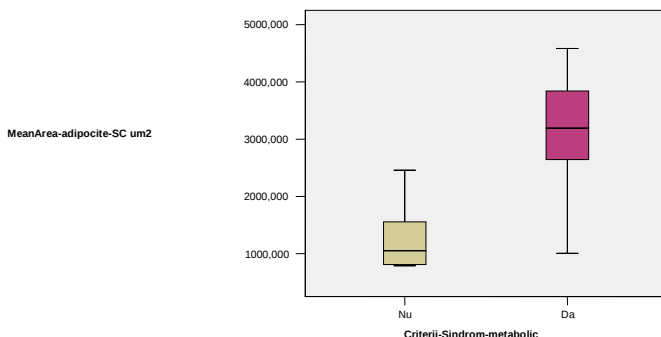


Fig. 10.38. Nivelul mediu al ariei medii a adipocitelor în funcție de prezența sindromului metabolic

La 57,5% dintre pacienți, nivelul mai crescut al ariei medii a adipocitelor subcutanate s-a corelat cu un nivel mai crescut al IMC ($r = +0,575$; $R^2 = 0,3308$; $p = 0,004$) după cum este indicat în figura 10.43.

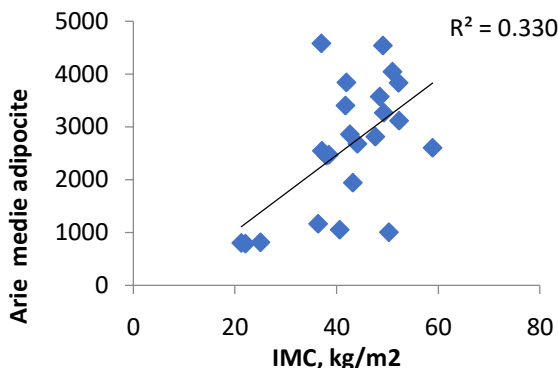


Fig. 10.43. Corelația nivelului mediu al adipocitelor subcutanate cu obezitatea

Corelația dintre Aria medie a adipocitelor și HOMA-IR a fost directă, moderată ca intensitate ($r = +0,493$; $p = 0,017$), similară cu cea obținută pentru Peptidul C ($r = +0,622$; $p = 0,002$) după cum este indicat în figura 10.45.

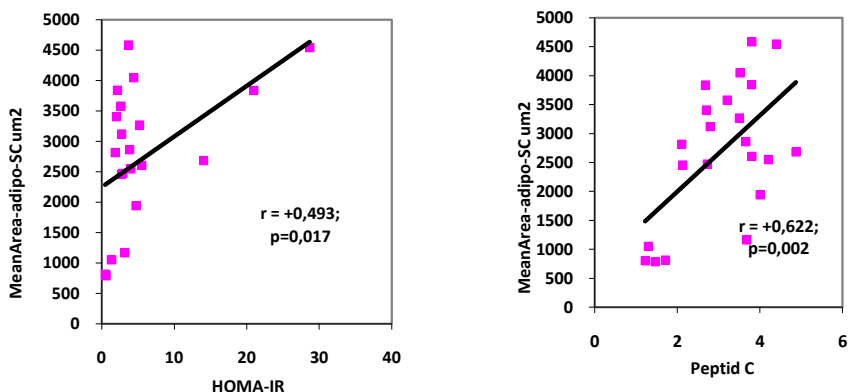


Fig. 10.45. Corelația ariei medii a adipocitelor cu HOMA-IR și peptidul C

Peste 60% dintre pacienți au asociat valori mai crescute ale raportului leptină/adiponectină cu valori mai crescute ale ariei medii a adipocitelor ($r = +0,602$; $p = 0,002$) (Fig.).

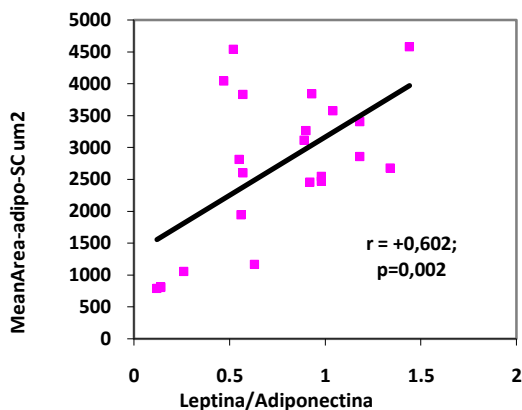


Fig. 10.46. Corelația dintre aria medie a adipocitelor și raportul Leptină/Adiponectină

Studiul Nr.3-Rezultatele evaluării experimentale a capacității de diferențiere adipogenică a ASCs subcutanate

A .

B.

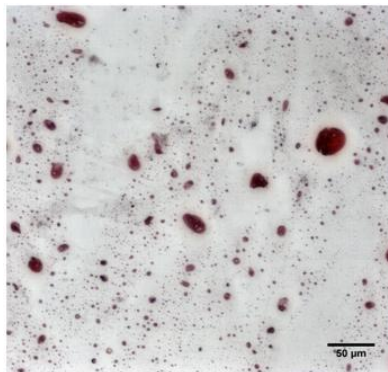
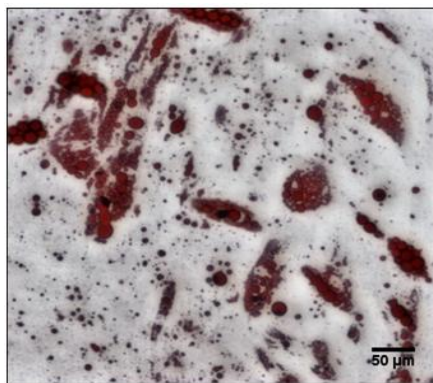


Fig. 10.51. Evaluarea comparativă a acumularii pigmentului specific lipidic (Oil Red O)

A. godeurile diferențiate adipogen pentru ASCS –lotul de control-pacienți normoponderali –microscopie brightfield („câmp luminos”)20x; B.

Diferențiere adipogenă pentru ASCS –lotul de pacienți obezi – microscopie brightfield („câmp luminos”)20x

a) Analiza descriptivă a acumulării lipidice evaluată prin absorbanta Oil red O pentru lotul studiat:

Valorile individuale ale acumulării de lipide au variat de la 0,410 la 0,820, nivelul mediu fiind semnificativ mai redus la pacienții cu sindrom metabolic (0,461 vs 0,668; $p=0,001$), cu precădere la sexul feminin (Tabel 10.19, figura 10.56).

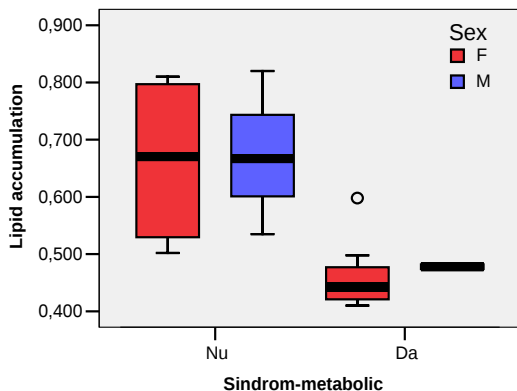


Fig. 10.56. Valori medii ale absorbantei Oil Red pe sexe comparativ pe loturi de studiu

b) Acumularea lipidică pentru pacienții obezi cu sindrom metabolic asociat comparativ cu cei „metabolic sănătoși”:

Se obiectivează un nivel al acumulării de lipide semnificativ mai redus (0,46 vs 0,67; $p=0,001$) la pacienții cu sindrom metabolic față de pacienții obezi fără sindrom metabolic asociat.

Tabel 10.20. Analiza comparativă în funcție de statusul metabolic al pacienților obezi pentru valoarea acumulării lipidice

Parametru	Pacienți obezi cu NonMS („metabolic sănătoși”) N=4	Pacienți obezi cu MS(cu sindrom metabolic asociat) N=16	T-test (Sig) $p<0.05$
Acumularea lipidică-valoarea absorbantei	0.67±1.23	0.46±0.59	0.001

Prin trasarea curbei ROC se constată că Oil Red absorbance poate fi un bun predictor al sindromului metabolic (AUC=0,973; IC95: 0,913-1,033) (figura 10.57).

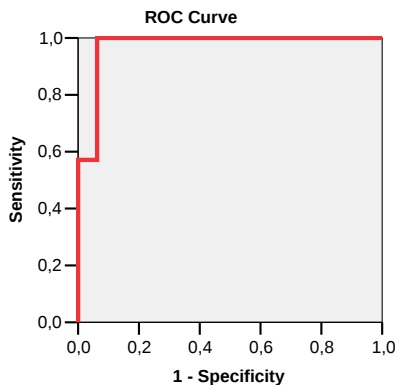


Fig. 10.57. Absorbanța Oil Red - predictor al sindromului

DISCUȚII

Studiul Nr. 1 - Studiul clinic, biochimic și hormonal al pacienților obezi adresați pentru chirurgie bariatrică. Analiza prospectivă (2015-2017): Întrucât obezitatea a devenit în ultima perioadă o problemă de sănătate cu dimensiuni epidemice globale, identificarea subgrupului de pacienți cu risc semnificativ mai crescut de a dezvolta complicații metabolice grave este esențială pentru focalizarea intervenției de scădere ponderală și de control al factorilor de risc la populația, care ar avea un beneficiu maxim. Acesta poate fi din punct de vedere practic și economic un pas important către personalizarea managementului obezității (Stefan N, 2018).

Excesul de adipozitate este asociat cu diferite tulburări. Sindromul metabolic, rezistența la insulină, diabetul zaharat de tip 2, hipertensiunea arterială, dislipidemiile, ateroscleroza și bolile cardiovasculare sunt consecințe majore ale obezității (WHO Obesity Fact sheet, 2015), (Mokdad AH, 2001). Datele publicate de Karelis AD et al. 2004 și Brochu (2001) au identificat o proporție de 20-30% de obezi „metabolic sănătoși”, în timp ce Karelis (2005) a decelat o proporție mai mare de aproximativ 40% din lotul de pacienți obezi studiat.

Încă de la începutul anilor 2000, adiponectina a început să fie considerată un biomarker valoros pentru patologia metabolică, fiind demonstrată o corelație inversă atât cu adipozitatea viscerală, cât și cu nivelul glicemiei bazale, al trigliceridelor, al insulinemiei sau al valorilor tensiunii

arteriale (Ryo M, 2004). Astfel, rezultate similare cu cele obținute în studiul nostru au fost publicate de Kotani et al. (Kotani K, 2011), care a evidențiat niveluri mai ridicate ale LAR la pacienții cu sindrom metabolic sau Ayina et al (Ayina CNA, 2017), care a demonstrat corelații statistice semnificative între LAR și sindromul metabolic sau HOMA-IR. În studiul nostru, corelația dintre adiponectină și HOMA-IR a fost indirectă și redusă ca intensitate, însă având în vedere lotul mic de pacienți incluși în studiu se poate estima că pentru un lot mai extins de pacienți obezi această relație să fie păstrată și să se obțină semnificație statistică.

Studiul Nr.2 Evaluarea histologică a fragmentelor de țesut adipos subcutanat: Morfologia adipocitară apare în literatură ca o caracteristică individuală cu variabilitate inter-populațională crescută. Aria adipocitelor subcutanate a fost, de asemenea, asociată cu insulino-rezistența la pacienții non-diabetici, independent de IMC (Lundgren , 2007), dar și cu nivelul glicemiei (Hoffstedt ,2010; Yang ,2012).

Este cunoscută modificarea profilului secretor al adipocitelor hipertrofice, prin creșterea producției de leptină și reducerea nivelului de adiponectină (Meyer LK,2013). Atât IMC, cât și criteriile sindromului metabolic, HOMA-IR sau nivelul seric al adipokinelor nu sunt parametri ideali în evaluarea precoce a modificărilor metabolice la pacienții obezi și de aceea evaluarea modificărilor morfologice și funcționale ale adipocitelor cu localizare subcutantă devine o ipoteză importantă în identificarea precoce a disfuncțiilor metabolice asociate obezității. Astfel, dimensiunile adipocitelor subcutanate se conturează a fi un parametru important, iar fenotipul adipocitelor cu arie crescută, hipertrofice se asociază cu valori mai crescute ale HOMA-IR (Skurk T, 2007), dar și ale hsCRP ca marker al inflamației cronice.

În această teză, susținem ipoteza că dimensiunea crescută a adipocitelor, dar și capacitatea scăzută de proliferare sau hiperplazie, sunt factori direct legați de anomalile metabolice ale țesutului adipos dar și de particularitățile metabolice la nivel sistemic, astfel că se poate identifica o categorie aparte de indivizi predispuși la complicațiile metabolice ale obezității.

Dimensiunea adipocitelor este considerată un marker important pentru evaluarea riscului metabolic asociat obezității, urmărind calitatea țesutului gras mai mult decât cantitatea. Studii recente au demonstrat că reducerea volumului adipocitelor este asociată cu ameliorarea sensibilității la insulină după scăderea ponderală. De asemenea, este stabilită asocierea între volumul adipocitar crescut și sindromul metabolic (Andersson DP, 2014), dimensiunile adipocitelor fiind demonstrate ca predictor pentru riscul de a dezvolta diabet zaharat tip 2 (Lonn M, 2010).

Studiul Nr.3-Rezultatele evaluării experimentale a capacității de diferențiere adipogenică a ASCs subcutanate: Dezvoltarea insulino-resistenței și a complicațiilor sale cunoscute ca sindrom metabolic sunt asociate distribuției de tip abdominal a țesutului adipos și au ca mecanism fiziopatologic preponderent hipertrofia adipocitelor și nu proliferarea lor hiperplazică. Aceasta particularitate pare să constituie un element esențial în patogenia sindromului metabolic și a fost intens studiată în ultimul deceniu. Numeroși factor ai micromediului adipocitar au fost evaluați ca având un potențial rol în inducerea acestei tendințe către hipertrofie și acumulare de lipide (Symonds ME, 2012).

În ceea ce privește funcția adipogenică a precursorilor mezenchimali izolați de la nivelul țesutului adipos subcutanat, estimarea acumulării lipidice este conform datelor noastre experimentale, în strânsă corelație cu insulinoresistența periferică. Astfel că tendința către încărcare lipidică masivă, depinde de precursorii acestor adipocite obținute in vitro în condiții identice de mediu și această cale transcripțională a adipogenezei poate constitui punctul de plecare pentru cascada fiziopatologică a patologiei metabolice la pacienții obezi. Studiul nostru experimental a demonstrat o scădere a capacității de diferențiere adipogenică pentru ASCs izolate de la pacienții obezi față de cei normoponderali din lotul control iar acumularea lipidică în adipocitele mature obținute a fost corelată semnificativ cu nivelul insulinemiei dar și cu raportul leptină/adiponectină serică.

Deși există o preocupare în creștere pentru procesul de diferențiere adipocitară din precursori mezenchimali sunt încă puține studii care să stabilească relația cu insulinoresistența și sindromul metabolic pentru modelul uman. Studiul nostru publicat recent a evaluat capacitatea de diferențiere adipogenică a ASCs recoltate de la pacienți cu obezitate grad III adresate pentru chirurgie bariatrică la care s-a demonstrat comparativ cu lotul control de pacienți normoponderale o reducere semnificativă a capacității de a genera noi adipocite.

CONCLUZII

1.Evaluarea profilului lipidic la pacienții obezi se dovedește a furniza predictorii valoroși pentru sindromul metabolic, în studiul nostru atât nivelul seric al trigliceridelor, cât și LDL colesterolul, Colesterolul total și raportul Colesterol total/HDL colesterol s-au dovedit a fi predictorii fiabili ai sindromului metabolic.

2.Pentru raportul Leptină/Adiponectină serică (LAR) deși s-au decelat valori ușor mai reduse la pacienții cu sindrom metabolic fără a se obține semnificație

statistică, totuși, prin trasarea curbei ROC se remarcă faptul că LAR poate fi un bun predictor al sindromului metabolic.

3. Aria medie a adipocitelor subcutanate a fost asociată semnificativ atât cu nivelul peptidului C, cât și cu indicele HOMA-IR, demonstrând corelația strânsă între morfologia adipocitară și sindromul de insulino-rezistență, ca mecanism patogenic esențial în diabetul zaharat tip 2.

4. Corelațiile obținute între nivelul de absorbantă al pigmentului lipidic și indicele de insulino-rezistență (HOMA-IR), peptidul C dar și cu parametrii metabolismului lipidic susțin importanța acestui marker de evaluare al diferențierii adipocitare ca element integrat al fiziopatologiei sindromului metabolic în obezitate.

5. În studiul nostru, s-au pus în evidență atât particularitățile profilului metabolic și endocrin al pacienților obezi, caracterizați prin prisma asocierii criteriilor sindromului metabolic, dar și aspecte experimentale privind histologia țesutului adipos, aria adipocitelor subcutanate la acești pacienți, dar și perturbările procesului de adipogeneză demonstrat prin studiul pe culturi celulare in vitro al capacității de diferențiere adipogenică a precursorilor mezenchimali din țesutul adipos subcutanat al pacienților obezi.

PERSPECTIVE. ELEMENTE DE ORIGINALITATE ALE TEZEI

Progresele înregistrate în ceea ce privește descifrarea mecanismelor fiziopatologice ale sindromului metabolic asociat obezității aduc în prim-plan țesutul adipos și particularitățile legate de expansiune, capacitatea de stocare a acizilor grași rezultați din balanța energetică pozitivă dar și perturbări în activitatea endocrină a țesutului adipos în obezitate.

Ne propunem ca pe viitor să extindem această direcție de cercetare către identificarea unor markeri moleculari specifici în cadrul căilor de semnalizare ale adipogenezei, care să se constituie în factori de predicție valoroși pentru evoluția metabolică a pacienților obezi, stratificând în acest fel mai bine tipul de intervenție terapeutică și eventual indicația pentru chirurgie bariatrică.

Rezultatele acestei cercetări deschid orizontul unor abordări de cercetare fundamentală mai ample în domeniul obezității și al sindromului metabolic în încercarea de a găsi și noi ținte farmacologice care să vizeze calea adipogenezei ca element primordial în cascada disfuncțiilor metabolice asociate excesului ponderal.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Heilbronn L, Smith SR, Ravussin E. Failure of fat cell proliferation, mitochondrial function and fat oxidation results in ectopic fat storage, insulin resistance and type II diabetes mellitus. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004 Dec; 28(Suppl 4):S12-21.
2. Karen M. Lyons-UCLA Adapted from Hausman et al. Modified on 12/19/2008.
3. Stefan N, Schick F, Haring HU. Causes, characteristics, and consequences of metabolically unhealthy normal weight in humans. *Cell Metabolism* 2017, 26(2): 292–300.
4. Zimmet P, Magliano D, Matsuzawa Y, Alberti G, Shaw J. The metabolic syndrome: a global public health problem and a new definition. *J Atheroscler Thromb*. 2005; 12(6):295-300.
5. WHO: Obesity and over weight, Fact sheet N 311, Updated January 2015.
6. Symonds ME . *Adipose Tissue Biology*, ed.Springer Science, LLC2012, pages 123-128;
7. Karelis AD, St-Pierre DH, Conus F et al. Metabolic and body composition factors in subgroups of obesity: what do we know? *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:2569–75.
8. Brochu M, Poehlman ET, Ades PA. Obesity, body fat distribution, and coronary artery disease. *J Cardiopulm Rehabil*. 2000;20:96–108.
9. Lonn M, Mehlig K, Bengtsson C, Lissner L. Adipocyte size predicts incidence of type 2 diabetes in women. *FASEBJ* 2010; 24:326–331.
10. Andersson DP, Hogling DE, Thorell A et al: Changes in Subcutaneous Fat Cell Volume and Insulin Sensitivity After Weight Loss. *Diabetes Care* 2014; 37:1831–1836.
11. Skurk T, Alberti-Huber C, Herder C, Hauner H; Relation ship between Adipocyte Size and Adipokine Expression and Secretion, *TheJournal of Clinical Endocrinology&Metabolism*, Volume 92, Issue3, 2007, Pages 1023–1033.
12. Mokdad AH, Bowman BA, Ford ES, Vinicor F, Marks JS, Koplan JP. The continuing epidemics of obesity and diabetes in the United States. *Jama*. 2001;286:1195–1200
13. MeyerE., Westerveld H. T., de Ruyter-Meijstek F.C. et al. Abnormal postprandial apolipoprotein B-48 and triglyceride responses in normolipidemic women with greater than 70% stenotic coronary artery disease: A case-control study. *Atherosclerosis*.1996; 124:221–235.
14. Hoffstedt J., Arner P, Hellers G, F. Lönnqvist. Variation in adrenergic regulation of lipolysis between o mental and subcutaneous adipocytes from obese and non-obese men, *Journal of Lipid Research* 1997. vol.38,

- no.4, pp.795–804.
15. Yang YK, Chen M., Clements RH et al. Human mesenteric adipose tissue plays unique role versus subcutaneous and omental fat in obesity related diabetes. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2008 vol.22, no.5-6, pp.531–538.
 16. Lundgren M, Svensson M, Lindmark S et al. Fat cell enlargement is an independent marker of insulin resistance and 'hyperleptinaemia'. *Diabetologia* 2007; 50:625–633.
 17. Kotani K, Sakane N. Leptin: adiponectin ratio and metabolic syndrome in the general Japanese population. *Korean J Lab Med*. 2011; 31(3): 162–166.
 18. Ryo M, Nakamura T, Kihara S, et al Adiponectin as a bio marker of the metabolic syndrome. *Circ.J*. 2004; 68:975-981.