



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
“GRIGORE T. POPA” IAȘI

CERCETĂRI FARMACOLOGICE PRIVIND EFECTELE UNOR SUPLIMENTE ALIMENTARE ÎN AFECȚIUNI CRONICE

Coordonator de doctorat:
Prof. Dr. Elena Cătălina LUPUȘORU

Doctorand:
Silvia GODEA (LUPEI)

2020

Teza de doctorat cuprinde o parte generală, structurată sub forma a 4 capitole (un capitol introductiv, cu justificarea alegerii temei), însumând 45 de pagini, și partea personală alcătuită din 8 capitole însumând 103 de pagini.

În total, sunt 56 de figuri și 44 de tabele, 349 de referințe bibliografice și 1 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: suplimente alimentare, boli cronice, ulei de pește, dislipidemie, ateroscleroză, steatoză hepatică, chestionar.

CUPRINS

CUPRINS	i
Listă de abrevieri	iv
 STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
JUSTIFICAREA ALEGERII TEMEI	1
Importanța temei alese din perspectivă științifică și practică	1
CAPITOLUL 1. DATE CU CARACTER GENERAL PRIVIND UTILIZAREA SUPLEMENTELOR ALIMENTARE ÎN PREZENT	4
1.1. Introducere	4
1.2. Definirea conceptului de supliment alimentar	5
1.3. Scurt istoric privind utilizarea suplimentelor alimentare	5
1.4. Clasificarea suplimentelor alimentare	6
1.4.1. Vitaminele și mineralele	7
1.4.2. Alte substanțe cu efect nutrițional sau fiziologic	10
CAPITOLUL 2. UTILIZAREA DE SUPLEMENTELE ALIMENTARE DREPT ELEMENT COMPONENT AL FENOMENULUI AUTOMEDICAȚIEI – BENEFICII ȘI ASPECTE NEGATIVE	13
2.1. Automedicația și utilizarea suplimentelor alimentare drept automedicație	13
2.1.1. Definirea termenului. Introducere	13
2.1.2. Tipuri de automedicație. Rațional și irațional în automedicație	13
2.1.3. Utilizarea suplimentelor alimentare drept component al fenomenului automedicației	15
2.2. Consecințe clinice ale consumului de suplimente alimentare	15
2.2.1. Beneficiile consumului de suplimente alimentare	15
2.2.2. Consecințe negative ale consumului de suplimente alimentare	17
CAPITOLUL 3. BOLI CRONICE ȘI UTILIZAREA DE SUPLEMENTE ALIMENTARE ÎN CADRUL ACESTORA	21
3.1. Introducere, definire, problematica bolilor cronice în contextul socioeconomic actual	21
3.2. Mecanismele patogenice comune ale bolilor cronice	23
3.2.1. Stresul oxidativ, oxidanți și antioxidanți în patogenia, prevenția și terapia bolilor cronice	23
3.2.2. Anomaliile metabolismului proteic și bolile cronice; rolul acestor anomalii în oncogeneză și îmbătrânirea celulară	30
3.2.3. Îmbătrânirea și inflamația în contextul bolilor cronice; rolul suplimentelor alimentare în ameliorarea acestora	31
3.3. Afecțiuni cronice frecvente și detalierea unor mecanisme patologice implicate în cadrul acestora	32
3.3.1. Obezitatea	32
3.3.2. Ateroscleroza – prototip de boală cronică modelată de suplimente alimentare	33
3.4. Acțiunile medicinei preventive și controlul factorilor de risc aterogenici	39
3.5. Importanța și rolul nutriției în evoluția și progresia bolilor cronice. Rolul suplimentelor alimentare în astfel de afecțiuni	41
3.6. Bolile cronice – rolul suplimentelor alimentare în prevenție	43
 CONTRIBUȚII PROPRII	
CAPITOLUL 4. MOTIVAȚIA ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI	46
4.1. Motivația alegerii temei studiilor	46
4.1.1. Motivația alegerii obiectivelor și metodelor în studiul experimental	46
4.1.2. Motivația alegerii obiectivelor în studiul farmacoepidemiologic prin metoda chestionarului asupra profilului consumului de suplimente alimentare pentru populația din zona geografică Moldova, România	49
4.2. Obiectivele cercetărilor	52
4.2.1. Obiective ale studiului experimental	52
4.2.2. Obiective ale studiului prin metoda chestionarului asupra profilului farmacoepidemiologic al consumului de suplimente alimentare pentru populația din zona geografică Moldova, România	53
CAPITOLUL 5. INSTRUMENTE METODOLOGICE UTILIZATE	55
5.1. Metode privind studiul experimental	55
5.2. Studiul populațional efectuat prin aplicarea chestionarului	60
5.3. Tehnici și metode interpretare statistică a datelor	61
CAPITOLUL 6. STUDIU PRIVIND EFECTELE ACIZILOR GRAȘI OMEGA-3 DIN	

ULEIUL DE PEȘTE ASUPRA CREȘTERII PONDERALE, PROFILULUI LIPIDIC (COLESTEROL SERIC TOTAL, COLESTEROL SERIC LDL, COLESTEROL SERIC HDL), MORFOLOGIEI AORTICE ȘI HEPATICE LA ȘOBOLANII CU DIETĂ NORMALĂ, HIPERCOLESTEROLICĂ ȘI MIXTĂ	63
6.1. Introducere	63
6.2. Obiective	63
6.3. Materiale și metode	64
6.4. Rezultate	66
6.5. Discuții	83
6.6. Concluzii	92
CAPITOLUL 7. ALCĂTUIREA CHESTIONARULUI PENTRU STUDIUL FARMACOEPIDEMIOLOGIC AL CONSUMULUI DE SUPLIMENTE ALIMENTARE PENTRU POPULAȚIA DIN ZONA GEOGRAFICĂ MOLDOVA, ROMÂNIA - STABILIREA ÎNTREBĂRILOR. IDENTIFICAREA CONDIȚIILOR DE APLICARE. STABILIREA EȘANTIONULUI DE POPULAȚIE PENTRU APLICARE. VALIDAREA CHESTIONARULUI	94
7.1. Introducere	94
7.2. Obiective	94
7.3. Materiale și metode	95
7.4. Rezultate	96
7.5. Discuții	120
7.6. Concluzii	121
CAPITOLUL 8. APLICAREA CHESTIONARULUI PENTRU STUDIUL FARMACOEPIDEMIOLOGIC AL CONSUMULUI DE SUPLIMENTE ALIMENTARE ÎN POPULAȚIA DIN ZONA GEOGRAFICĂ MOLDOVA, ROMÂNIA, ELABORAT ȘI VALIDAT ÎN CADRUL CAPITOLULUI ANTERIOR. ANALIZA DATELOR OBTINUTE ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR	122
8.1. Introducere	122
8.2. Obiective	122
8.3. Materiale și metode	123
8.4. Rezultate	123
8.5. Discuții	144
8.6. Concluzii	146
CAPITOLUL 9. CONCLUZII GENERALE	147
CAPITOLUL 10. ELEMENTE DE ORIGINALITATE ALE TEZEI	149
CAPITOLUL 11. PERSPECTIVE DE CERCETARE	150
BIBLIOGRAFIE	151
Anexa 1. Model chestionar aplicat.	

Listă de abrevieri

12-HPETE: acid 12-hidroxiieicosatetraenoic;
 AD: apă distilată;
 ADN: acid dezoxiribonucleic;
 ADP: adenzin-difosfat;
 AG: acizi grași;
 ALT: alanin-aminotransferaza;
 AMPc: adenzin-monofosfat ciclic;
 ARN: acid dezoxiribonucleic;
 AST: aspartat-aminotransferază;
 ATP: adenzin-trifosfat;
 BCV: boli cardiovasculare;
 CA1: combined alternative 1;
 CA2: combined alternative 2;
 Ca²⁺: ioni bivalenți de calciu;
 CCT: suspensie standardizată conținând 4% colesterol, 1% acid colic și 0,5% 2-tiouracil;
 CD: cluster of differentiation antigens (antigene marker ai diferențierii);
 CDC: Centers for Disease Control and Prevention;
 ChREBP: *carbohydrate responsive element-binding protein* (proteine care leagă elementele sensibile la carbohidrați);
 Cl⁻: anion monovalent de clor;
 Co: ioni de cobalt;
 CRP: proteina C-reactivă (*C-reactive protein*);
 CT: colesterol total;
 Cu²⁺: ioni bivalenți de cupru;
 DAG: diacilglicerol;
 DHA: acid docosahexaenoic;
 ECDC: *European Centre for Disease Prevention Control* (Centrul European pentru Prevenția Bolilor);
 EMA: *European Medicines Agency* (Agenția Europeană a Medicamentelor);
 EPA: acid eicosapentaenoic;
et al. are semnificația *et alia* (latină), însemnând “și alții”;
 etc.: etcetera (latină), are semnificația “și altele”;
 FDA: *Food and Drugs Administration, United States of America* (Instituție a guvernului Statelor Unite ale Americii, ce se ocupă cu reglementarea în ceea ce privește alimentele și medicamentele);
 Fe²⁺: ioni bivalenți de fier; Fe³⁺: ioni trivalenți de fier;
 GSH: γ -glutamilmisteinilglicină, glutatation (formă redusă);
 H⁺: protoni, ioni de hidrogen;
 H₂O₂: peroxid de hidrogen, apă oxigenată;
 HDL: *high-density lipoprotein cholesterol* (lipoproteine cu densitate mare);
 HFD: *high-fat diet* (dietă bogată în lipide);
 HIV: *human immunodeficiency virus* (virusul imunodeficienței umane);
 HTA: hipertensiune arterială;
 IGF-I: *insulin-like growth factor I* (factorul de creștere asemănător insulinei-I);
 IL-6: interleukin 6 (interleukina 6);
 IP₃: inozitol-trifosfat;
 LDL: *low-density lipoprotein cholesterol* (lipoproteine cu densitate mică);
 MCP-1: *monocyte chemoattractant protein-1* (proteina chemoattractantă a monocitelor 1);
 Mg²⁺: ioni bivalenți de magneziu;
 Na⁺: cationi de sodiu;
 NADPH: nicotinamid-adenină dinucleotide fosfat, formă redusă;
 NaHCO₃⁻: anion bicarbonic;
 OMS: Organizația Mondială a Sănătății (*WHO = World Health Organisation*, în limba engleză);
 PL: fosfolipază;
 PLC: fosfolipaza C;
 PPAR γ : peroxisome proliferator-activated receptor γ ;
 PUFAs: *polyunsaturated fatty acids* (acizi grași polinesaturați);
 ROS: specii radicalice libere ale oxigenului;
 SA: suplimente alimentare;
 SAM: S-adenozin-metionină;
 SD: *standard diet* (dietă standard);
 Se: seleniu;
 SIDA: sindromul imunodeficienței autodobândite;
 SOD: superoxid-dismutază;
 SREBP-1c: sterol regulatory element binding protein 1c;
 SUA: Statele Unite ale Americii;
 TC: tomografie computerizată;
 TG: trigliceride;
 TNF- α : *tumor necrosis factor α* (factor de necroză tumorală α);
 UE: Uniunea Europeană;
 UP: ulei de pește;
 VCAM-1: *vascular cell adhesion protein 1* (moleculă de adeziune a celulelor vasculare-1);
 VLDL: *very low-density lipoprotein cholesterol* (lipoproteine cu densitate foarte mică);
 vs.: versus;
 Zn²⁺: ioni bivalenți de zinc.

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

JUSTIFICAREA ALEGERII TEMEI

Conceptul de “supliment alimentar” (SA) este relativ nou în vocabularul uzual din domeniul alimentației și nutriției (ultimele două decenii ale secolului XX). Bazele legislative privind suplimentele alimentare au fost puse în Statele Unite ale Americii, după lungi dispute între Food and Drug Administration (FDA – Administrația pentru Alimente și Medicamente) și producătorii, respectiv consumatori (Curtin et al., 2012).

Conform Ordinului 1069/2007 al Ministerului Sănătății Publice, SA sunt produse al căror scop e să completeze dieta normală și sunt surse concentrate de nutrienți sau alte substanțe cu efect nutrițional ori fiziologic, separat sau în combinație; sunt extrase din alimente, diferite produse de origine vegetală, animală sau minerală sau obținute prin sinteză.

Un regim alimentar adecvat și variat ar putea oferi, în condiții normale, toți nutrienții necesari dezvoltării normale și asigurării sănătății, în cantități corespunzătoare celor stabilite și recomandate de datele științifice. Însă, anchetele arată că această situație ideală nu este o realitate pentru toți nutrienții și toate grupurile de populație. Stilurile de viață specifice sau alte motive (precum unele stări patologice) limitează aportul sau absorbția unor principii nutritive, dar consumatorii pot alege să creacă aportul unor nutrienți prin suplimente alimentare (Garban et al., 2012; Marsh et al., 2006). Pentru un nivel ridicat de protecție a consumatorilor și pentru a le ușura alegerea, produsele introduse pe piață trebuie să fie sigure și etichetate adecvat.

Poluarea din ce în ce mai intensă a mediului și stresul cotidian ale vieții moderne duc deseori la stări sub-optimale ale sănătății, care trebuie contracarate. Creșterea rezistenței generale a organismului și menținerea funcțiilor sale au devenit priorități absolute pentru forurile competente ale fiecărei țări. Rolul SA este acela de a aduce în dietă substanțele care s-au dovedit utile în completarea unei alimentații deficitare sau refacerea homeostaziei în contextul diferitelor procese fiziopatologice (hepatotoxicitatea, acumularea de radicali liberi în exces, imunodepresia, depunerea anormală a țesutului adipos, neurotoxicitatea etc.), atunci când este dificilă asigurarea acestora în mod direct, din alimente (Banu et al., 1982). Totuși, un aport excesiv al anumitor nutrienți poate avea efecte nefaste pentru sănătate. Este necesară stabilirea unor niveluri maxime sigure ale acestora în suplimentele alimentare, după caz, astfel încât să asigure utilizarea corespunzătoare de către consumator a produselor în conformitate cu instrucțiunile de folosire furnizate de producător (Marsh et al., 2006).

Importanța temei alese din perspectivă științifică și practică

Importul, producția și comercializarea SA în Europa a cunoscut o adevărată explozie. Elaborarea unei legislații unitare și viabile și dezvoltarea bazelor științifice în domeniu a devenit o necesitate (Garban et al., 2012; Banu et al., 1982). Există o continuă extindere a mijloacelor de abordare teoretică și aplicativă a procesării alimentelor, a controlului pentru siguranța lor și a transpunerii legislației comunitare la nivel național (O'Brien et al., 2017).

Provocarea fundamentală a reglementării SA constă în lipsa unui consens global cu privire definirea acestor produse. Acestea sunt cunoscute diferit în diferite țări: fie sub denumirea de *suplimente alimentare*, fie *produse naturale pentru sănătate* (*natural health products*, NPH), fie *medicamente complementare*. Produse considerate aliment și reglementate ca atare într-un anumit stat, într-o altă jurisdicție pot fi considerate supliment sau un bun terapeutic (medicament complementar) sau produs terapeutic (medicament cu prescripție medicală) sau potențial chiar substanță cu regim controlat de eliberare. Țări precum China sau India au un cadru de reglementare specific pentru medicina tradițională sau fitomedicină, care include botanice brute (Dwyer et al., 2018). Un plus de dificultate în a

judeca fenomenul consumului acestor produse este dat de schimbările legislative în domeniu.

CONTRIBUȚII PROPRII

CAPITOLUL 4. MOTIVAȚIA ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI

4.1. Motivația alegerii temei studiilor

Un număr tot mai mare de persoane folosesc suplimente alimentare. În România numărul produselor de tipul suplimentelor alimentare, comercializate legal, este de peste 18.000 de unități, iar valoarea comercială apreciată a acestora este de aproximativ 250 de milioane de euro și ar urma să se dubleze în următorii cinci ani (Health Canada. Policy Paper: *Nutraceuticals/functional foods and health claims on foods. Therapeutic Products Programme and the Food Directorate from the Health Protection Branch*; 1-29, 1998).

4.1.1. Motivația alegerii obiectivelor și metodelor în studiul experimental

Bolile cardiovasculare sunt una dintre cele mai importante probleme de sănătate, prin incidența lor ridicată, riscul crescut de cronicizare sau deces și costurile implicate în terapie. Steatoza hepatică non-alcoolică este estimată a afecta 20-30% din populația activă adultă.

Există numeroase cercetări care susțin efectul protector al PUFA n-3 (acizi grași polinesaturați, polyunsaturated fatty acids tip n-3) împotriva bolilor cardiovasculare și steatozei hepatice (Yang et al., 2019), dar rezultatele sunt oarecum contradictorii. Mecanismele moleculare prin care aceștia previn ateroscleroza și steatoza hepatică sunt doar puțin înțelese; ar putea exista diferențe semnificative privind efectul PUFA asupra proceselor menționate în funcție de tipul dietei, asocierea cu alte substanțe sau de profilul metabolic individual. Sursele PUFA și raportul dintre DHA și EPA sunt extrem de variabile și generează o rată mare de incertitudine în interpretarea rezultatelor studiilor. Prin urmare, simularea profilurilor metabolice heterogene pentru anticiparea eficienței AG ar avea avantaje importante.

Începând cu anii 1970, există o tendință pronunțată, în special în rândul populației tinere, pentru o dietă de tip occidental, bogată în acizi grași hidrogenați. În SUA, în ultimele decenii, a avut loc o tranziție considerabilă a modelelor alimentare tradiționale, bazate pe un conținut ridicat de glucide și fibre complexe, către o dietă bogată în zaharuri, grăsimi și produse animale (Wang et al., 2018). Cu toate acestea, mai recent, există și un nivel sporit de conștientizare, în populația occidentală, asupra importanței unei diete sănătoase în prevenirea bolilor metabolice și a tendinței de a reduce aportul de alimente în acizi grași saturați. Dietele mediteraneene, bazate pe PUFA, cum ar fi ω -3 și ω -6, au devenit tot mai populare (Granado-Casas et al., 2019), precum și utilizarea suplimentelor cu AG ω -3, precum uleiul de pește.

Un segment mare de populație nu se limitează exclusiv la un tip de dietă; prin urmare, este necesar să se proiecteze un studiu care analizează, compară și cuantifică efectele dietelor occidentale, mediteraneene și mixte.

4.1.2. Motivația alegerii obiectivelor în studiul farmacoepidemiologic prin metoda chestionarului asupra profilului consumului de suplimente alimentare la populația din zona Moldova

Transformarea remediilor tradiționale în medicamente, nutraceutice și suplimente alimentare se bazează pe rolul substanțelor fitochimice, care sunt din ce în ce mai recunoscute ca reglatori ai semnalelor celulare (Soubannier et al., 2009; Virgili et al., 2008). Conform noului raport al Global Industry Analysts Inc., se prognozează că piața globală a remediilor și suplimentelor din plante va ajunge la 99,4 miliarde de dolari în anul 2027, cu o creștere în cursul anului 2020 față de anul precedent de peste 60 miliarde de dolari și cu perspectiva unei creșteri anuale de aproximativ 7% în următorul deceniu (PRWeb. Releases. [on line] Available at: http://www.prweb.com/releases/herbal_supplements/herbal_remedies/prweb9260421.htm). Conform aceleiași surse, Europa realizează cea mai largă pondere pe piața mondială.

Proгноza de creștere a volumului pieței suplimentelor alimentare se menține chiar în contextul declinului economic generat de pandemia **CoViD-19**, probabil datorită preocupării în creștere pentru menținerea stării de sănătate.

Utilizarea și cercetarea medicamentelor și a suplimentelor alimentare derivate din plante s-a accelerat în ultimii ani, de când societățile industrializate dezvoltă noi produse fitofarmaceutice și, mai mult, nutraceutice, care susțin că previn bolile cronice, îmbunătățesc sănătatea, întârzie procesul de îmbătrânire și cresc expectanța de viață (Health Canada. Policy Paper: *Nutraceuticals/functional foods and health claims on foods. Therapeutic Products Programme and the Food Directorate from the Health Protection Branch*; 1-29, 1998).

Cu toate că evidența științifică este încă insuficientă, o privire îndeaproape asupra cercetărilor științifice în desfășurare și a investițiilor în plante medicinale și medicamente derivate din acestea arată că fitoterapia va continua să joace un rol important pentru sănătatea umană.

4.2. Obiectivele cercetărilor

4.2.1. Obiective ale studiului experimental

Studiile experimentale au vizat obținerea de informații privind efectele acizilor grași omega-3 din uleiul de pește asupra creșterii ponderale, profilului lipidic (colesterol seric total, colesterol seric LDL, colesterol seric HDL), morfologiei aortice și hepatice la șobolanii cu dietă normală, hipercolesterolică și mixtă. Un element de noutate al prezentei cercetări îl constituie luarea în considerare a cazului dietelor mixte sau alternării tipurilor de alimentație la șobolani (hipercolesterolic, normal, cu sau fără suplimentare cu ulei de pește).

Studiile pe subiecți umani au vizat stabilirea percepțiilor și profilului consumului de suplimente alimentare la pacienții din județe zonei Moldova, provincie istorică a României.

Pentru a putea realiza o bună evaluare a beneficiilor aduse de suplimentarea dietei cu acizi grași polinesaturați de tip omega-3, trebuie avute în vedere mai multe tipuri de stiluri alimentare, având în vedere că un individ nu e restricționat la un anumit tip de dietă.

Cercetările noastre și-au propus următoarele obiective generale, în cadrul unui studiu experimental, pe șobolani Wistar, adulți, masculi:

O.G.A.1. Evaluarea efectelor induse de suplimentarea dietei cu PUFA n-3 asupra creșterii ponderale, profilului lipidic (colesterol seric total, LDL, HDL, trigliceride), morfologiei aortice și hepatice, la șobolani cu dietă normală;

O.G.A.2. Evaluarea efectelor induse de suplimentarea dietei cu PUFA n-3 asupra creșterii ponderale, profilului lipidic, morfologiei aortice și hepatice, la șobolani cu dietă hipercolesterolică;

O.G.A.3. Evaluarea efectelor induse de suplimentarea dietei cu PUFA n-3 asupra creșterii ponderale, profilului lipidic, morfologiei aortice și hepatice, la șobolani cu dietă alternată (hipercolesterolică / standard), în condițiile suplimentării continue sau intermitente;

O.G.A.4. Stabilirea de diferențe în ceea ce privește efectele induse de suplimentarea dietei cu PUFA n-3, aplicată continuu sau intermitent, asupra creșterii ponderale, profilului lipidic, morfologiei aortice și hepatice, la șobolani, în condițiile aplicării la șobolani cu dietă hipercolesterolică, standard, alternată.

4.2.2. Obiective ale studiului prin metoda chestionarului asupra profilului farmacoepidemiologic al consumului de suplimente alimentare pentru populația din zona geografică Moldova, România

Pentru a putea realiza o strategie de promovare consumului de suplimente alimentare, cu evitarea, pe cât posibil, a excesului sau utilizării acestora în condițiile în care ar fi nocive, este necesar să avem la dispoziție particularitățile legate de percepția, disponibilitatea la consum și cheltuire de resurse, în ceea ce privește populația din țara noastră.

Cercetările privind diferite practici automedicației cu suplimente alimentare în populația generală sau în subgrupuri populaționale și-a propus următoarele obiective generale:

O.G.B.1. Evaluarea nivelului de conștientizare privind aceste produse într-un grup de utilizatori de automedicație din populația generală adultă din România, regiunea Moldovei (opt județe) pentru a identifica factorii legați de această practică.

O.G.B.2. Identificarea noțiunilor importante pentru creșterea nivelului de conștientizare privind utilizarea suplimentelor alimentare la diferite profiluri (nemedicale).

O.G.B.3. Evaluarea nivelului consumului de suplimente alimentare la populația generală adultă din România, regiunea Moldovei, cu particularizare pe profiluri de vârstă, sex, preocupare pentru efectuarea de exerciții fizice, proveniență din mediul rural sau urban, nivel de educație, stare de sănătate;

O.G.B.4. Analiza în mod particular a datelor colectate strict pentru municipiul Iași, principalul oraș universitar și centru economic al zonei.

Obiectivele principale au fost stabilite inițial, iar cele secundare ulterior.

CAPITOLUL 5. INSTRUMENTE METODOLOGICE UTILIZATE

5.1. Metode privind studiul experimental

Experimentele s-au efectuat cu avizul Comisiei de Etică a Cercetării a Universității de Medicină și Farmacie „Gr. T. Popa”, Iași, din 10.02.2015. S-au respectat normele UE referitoare la lucru pe animale de laborator (Directiva Consiliului European 86/609/EEC) și Legea 206/2004 cu privire la buna conduită în cercetarea științifică.

Subiecții testărilor au fost **șobolani Wistar**, de sex masculin. Șobolanii au fost obținuți de la Institutului Cantacuzino București prin intermediul biobazei UMF Iași. Șobolanii au fost menținuți în cuști individuale. După **diverse momente** (a se vedea Capitol 6, subcapitol Material și metodă) s-a practicat eutanasierea unor animale, iar la **terminarea experimentelor, toate animalele au fost eutanasiate. Eutanasierea s-a realizat prin anestezie** cu pentobarbital, 45 mg/kg.

Tehnici utilizate pentru analiza histopatologică a probelor de aortă și ficat

După eutanasiere, șobolanilor li s-au îndepărtat întreaga aortă și ficatul, organe care, o dată extirpate, s-au clătit cu soluție salină rece, s-au uscat cu hârtie de filtru, s-au examinat primar sub o lupă (5x) și s-au prelucrat de rutină.

Au fost prelevate șase-opt probe de 4 mm de la diferite niveluri ale fiecărei aorte și tăiate în secțiuni transversale și longitudinale. Secțiunile cu grosimea de 4-5 μ m au fost colorate cu hematoxilină și eozină (HE) și Van Gieson tricrom pentru evaluarea prin microscopică optă. Examinarea probelor de aortă a fost efectuată în secțiuni longitudinale și transversale și a constat în numărarea straturilor de collagen.

În evaluarea probelor de ficat, studiul s-a concentrat pe evaluarea semi cantitativă a modificărilor grase.

5.2. Studiul populațional efectuat prin aplicarea chestionarului

Studiul a fost conceput și aplicat după obținerea avizului Comisiei de Etică a Cercetării din 25.02.2014, în conformitate cu Legea 206/2004 privind buna conduită în cercetare și inovare științifică.

Studiul prin metoda chestionarului presupune selecție adecvată a lotului căruia îi este aplicat, ceea ce se poate realiza prin metoda eșantionării.

Mărimea unui eșantion se stabilește printr-o analiză minuțioasă care, pe lângă elementele statistice, trebuie să aibă în vedere și costurile, modul de selecție a datelor precum și alte aspecte de referință, care pot fi variabile sau perturbatoare la un moment dat. Se întâmplă uneori ca valorile variabilelor să fie necunoscute, sau/și valorile de eșantionare să se elucideze după efectuarea cercetării. Prin urmare, dimensiunea eșantionului este abordată la nivel teoretic, și se emit ipoteze legate de valorile variabilelor. Astfel, mărimea optimă a unui eșantion se deduce având în vedere valorile oportune nivelurilor probabilității cu care se face estimarea și a mărimii erorilor de estimare.

Mărimea eșantionului a fost stabilit prin consultarea datelor furnizate de Institutul Național de Statistică, privind recensământul din octombrie 2011, pentru a se stabili structura populației la nivelul căreia să fie aplicat chestionarul, în vederea reducerii marjei de eroare și a creșterii intervalului de încredere.

Alcătuirea chestionarului și validarea acestuia sunt descrise pe larg la capitolul 7 (secțiunea “Material și metodă”). Tot la capitolul 7, secțiunea “Rezultate”, este discutată structurarea eșantionului. La capitolul 8, secțiunea “Material și metodă” sunt descrise elementele legate de aplicarea chestionarului și selecția datelor. În continuare, prezentăm câteva principii care au stat la baza eșantionării.

Procedurile și structurarea lotului sunt descrise în detaliu la capitolul 7. S-a avut în vedere stabilirea unui număr minim de persoane chestionate, pentru a obține o marjă de eroare cât mai mică (de sub 0,05%), cu un interval de încredere adecvat (de peste 95%). S-a urmărit, de asemenea, obținerea unui nivel crescut de reprezentativitate a rezultatelor analizei răspunsurilor pentru caracteristicile reale ale profilului de consum a suplimentelor alimentare.

5.3. Tehnici și metode interpretare statistică a datelor

În interpretarea statistică a datelor au fost utilizate o serie de metode statistice de analiză a factorilor de variabilitate în experimentul biologic (Mircioiu și Sandulovici, 2010). Analiza statistică a fost efectuată folosind software-ul SPSS.

În **cadrul studiului experimental**, datele au fost inițial verificate privind normalitatea distribuției în fiecare lot și pentru fiecare parametru testat, folosind testul Shapiro-Wilk.

Atunci când distribuția valorilor a fost indicată ca fiind normală, rezultatele au fost exprimate în grafice și tabele ca medie $\pm$ deviație standard, iar testul ANOVA a fost utilizat pentru diferențe între grupuri; pentru în cadrul aceluiași lot la momente diferite, au fost utilizat testul „t” (Student) pentru probe de pereche. S-a utilizat testul post-hoc Bonferoni.

Când distribuția valorilor a fost indicată ca nefiind de tip normal (gaussian), testul Kruskal-Wallis a fost utilizat pentru compararea loturilor. Astfel de înregistrări cantitative sunt prezentate în tabele sub formă de mediană și quartile ($q_1 - q_3$).

Statistica descriptivă **pentru studiul prin metoda chestionarului** a fost utilizată pentru a analiza variabilele numerice (exprimate sub formă de medie și deviație standard) și categorice (exprimate sub formă de frecvențe și procente). Variabilele categorice au fost evaluate prin testul chi-pătrat sau testul exact Fisher atunci când a fost cazul. Variabilele numerice continui au fost analizate utilizând testul Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks pentru a evalua semnificația statistică, urmat de analiza posthoc utilizând testul Dunn.

A fost efectuată o analiză de regresie logistică multivariată privind automedicația cu suplimente alimentare pentru a evalua relația cu atitudinile, percepțiile și nivelul de cunoștințe al respondenților.

O valoare a lui P mai mică de 0,05 a fost considerată semnificativă statistic.

CAPITOLUL 6. STUDIU PRIVIND EFECTELE ACIZILOR GRAȘI OMEGA-3 DIN ULEIUL DE PEȘTE ASUPRA CREȘTERII PONDERALE, PROFILULUI LIPIDIC (COLESTEROL SERIC TOTAL, COLESTEROL SERIC LDL, COLESTEROL SERIC HDL), MORFOLOGIEI AORTICE ȘI HEPATICE LA ȘOBOLANII CU DIETĂ NORMALĂ, HIPERCOLESTEROLICĂ ȘI MIXTĂ

6.1. Introducere

În literatura medicală, datele relevante referitoare la efectul indus de acizii grași polinesaturați de tip ω -3 din uleiul de pește în condiții de dietă variată (tipar de alimentație care este relativ apropiat de stilul alimentar al unei mari părți a populației), sunt insuficiente redate. Este necesar să se stabilească diferențele privind efectul protector al PUFA ω -3 împotriva bolilor cardiovasculare și hepatice, a creșterii ponderale excesive și a dislipidemiei. Încă nu există o abordare standardizată în testarea efectelor induse de PUFA ω -3 din UP sau din alte surse, fiind deci dificil să se stabilească amploarea rolului protector (Šunderić et al., 2019).

În studiul curent, sunt proiectate două modele de dietă mixtă la animale, care încearcă să simuleze diversitatea tiparurilor de hrănire la oameni.

6.2. Obiective

Obiectivul general a fost evaluarea efectului indus de PUFA n-3 asupra evoluției ponderale, profilului lipidic seric, aterogenezei și morfologiei hepatice la șobolani, folosind diferite diete, care combină factori aterogeni dovediți (colesterol, acid colic și 2-tiouracil) și factori anti-aterogenici potențiali (PUFA ω -3), administrați succesiv sau simultan, în diverse scheme. De asemenea, ne-am propus să evaluăm: răspunsul biologic în timpul hiperlipidemiei induse, răspunsul timpuriu și susținut la tratamentul PUFA n-3, pentru a îl putea corela cu prezența plăcii aterosclerotice la nivel de arteră aortă și cu severitatea modificărilor morfologice hepatice de tip steatoză, înainte sau după schimbarea tipologiei dietelor.

6.3. Materiale și metode

S-au utilizat 60 șobolani masculi Wistar (repartizați aleatoriu în 6 grupuri de câte 10). Vârsta lor a fost (la începerea experimentelor) de 5 săptămâni, iar masa lor cuprinsă între 140g și 160g la începerea perioadei de acomodare. Animalele au avut acces liber la apă și hrană, puse la dispoziția lor *ad-libitum*. Înainte de studiul propriu-zis, șobolanii au fost aclimatizați 7 zile.

Protocol experimental și metodă de administrare a dietei

Ciclurile de hrănire sunt redate în Tabelul 6.I pentru toate loturile. Pentru dieta standard (SD, standard diet), alimentația a constat în hrană peletizată. Dieta pentru hipercolesterolemie (dieta bogată în grăsimi, *high-fat diet*, HFD) a constat în suplimentarea apei potabile cu o suspensie (CCT) care conține colesterol 4%, acid colic 1% și 2-tiouracil 0,5%. Suplimentarea PUFA n-3 a constat administrarea de emulsie ulei de pește din capsule în doză de 50mg/kg/zi. La finalul celor 42 zile, animalele au fost sacrificate.

După fiecare ciclu de hrănire de 14 zile, s-a recoltat sânge pentru analize biochimice, iar doi șobolani din fiecare lot au fost eutanasiați, organele devenind disponibile pentru analiză histologică. S-au măsurat zilnic creșterea ponderală individuală și cantitatea de alimente și apă consumate, precum și cantitățile de urină și fecale.

Tabelul 6.I. Metoda de administrare a dietei pentru fiecare lot de studiu

Ciclu de hrănire	SD	n3	HFD	HFD + n3	CA1	CA2
zilele 1-14	AD	n3 PUFA	CCT	CCT + n3 PUFA	CCT + n3 PUFA	CCT
zilele 15-28	AD	n3 PUFA	CCT	CCT + n3 PUFA	CCT	CCT + n3 PUFA
zilele 28-42	AD	n3 PUFA	CCT	CCT + n3 PUFA	n3 PUFA	n3 PUFA, jumătate de doză

6.4. Rezultate

În perioada de acomodare (7 zile), **creșterea ponderală** a fost de $25,69 \pm 4,75\%$ la lotul

SD, similară cu celelalte loturi. Ziua 0 a fost considerată ultima din cele 7 zile de acomodare. Creșterile săptămânale și creșterea în cele 6 săptămâni de aplicare a diverselor diete sunt prezentate în Tabelul 6.II și Fig. 6.I – Fig. 6.IV.

Cea mai evidentă creștere după 42 zile de aplicare a diferitelor diete a fost la lotul HFD (de la $187,1 \pm 5,86$ g – ziua 0, la $292,33 \pm 3,26$ g – ziua 42; $36,08 \pm 1,92\%$ creștere) și cea mică la lotul n-3 (de la $186,1 \pm 5,86$ g la $248,17 \pm 2,85$ g; $26,08 \pm 1,92\%$). La lotul SD, creșterea a fost de la $186,1 \pm 4,25$ g la $260,67 \pm 4,58$ g ($28,71 \pm 1,67\%$). Există diferențe semnificative între loturile SD și n-3 ($P < 0,01$), SD și HFD ($P < 0,001$) și n-3 și HFD ($P < 0,001$). La lotul HFD + n-3, creșterea a fost de $30,33 \pm 2,06\%$ (de la $185,1 \pm 4,15$ g, la $268,33 \pm 11,15$ g), marcând o protecție indusă de n-3PUFA în condiții de aport lipidic crescut ($P < 0,001$ între HFD și HFD + n-3).

Pentru a evalua creșterea masei corporale pe diferite etape, am calculat procentul de creștere a acestui parametru față de momentul de cu 7 zile înainte.

Nu au existat diferențe între loturi după primele 7 zile. La 14 zile, s-a putut deja observa creștere mai atenuată la lotul n-3 vs. SD ($6,29 \pm 1,00\%$ vs. $7,17 \pm 0,58\%$ câștig ponderal săptămânal, $P < 0,05$), și mai accenuată la loturile HFD sau CA2 vs. SD ($9,73 \pm 3,54\%$ – HFD și $10,03 \pm 3,72\%$ – CA2, $P < 0,05$ față vs. SD și $P < 0,01$ vs. n-3 atât pentru HFD, cât și pentru CA2). PUFA n-3 ca supliment la dieta hiperlipidică nu a indus o protecție împotriva creșterii excesive la loturile HFD + n-3 și CA1.

Între zilele 14-21, creșterea a fost mai evidentă la lotul HFD vs. SD ($8,03 \pm 3,82\%$ vs. $4,90 \pm 0,18\%$, $P < 0,05$); la lotul n-3, creșterea a fost $3,58 \pm 1,31\%$ ($P < 0,05$ vs. SD, $P < 0,01$ vs. HFD). Procentul de creștere la lotul HFD + n-3 a fost $4,10 \pm 1,05\%$, mai mic ($P < 0,05$) vs. HFD, dar nesemnificativ inferior vs. SD. Lotul CA2 a avut o protecție relativă contra creșterii excesive ($4,23 \pm 2,41\%$, $P < 0,05$ vs. HFD). După 28 de zile, tendința lotului HFD la o creștere superioară vs. SD a fost foarte evidentă ($5,94 \pm 2,00\%$ vs. $3,68 \pm 0,20\%$, $P < 0,01$), ca și tendința lotului n-3 la o creștere inferioară ($2,44 \pm 1,61\%$, $P < 0,05$ vs. SD, $P < 0,01$ vs. HFD). Adăugarea PUFA a oferit oarecare protecție contra excesului ponderal lotul HFD + n-3 ($3,62 \pm 1,31\%$, $P < 0,05$ vs. HFD, nesemnificativ inferior vs. CA2 (creștere: $3,36 \pm 1,10\%$, $P < 0,01$ vs. HFD).

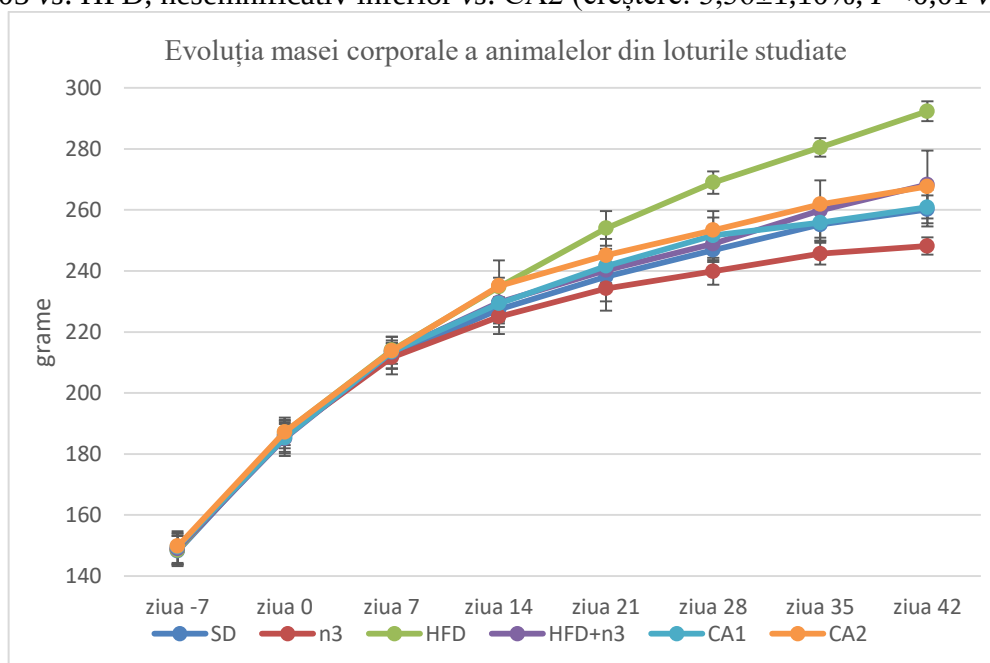


Fig. 6.II. Evoluția masei corporale în perioada de aclimatizare și în cele 6 săptămâni ale aplicare a diferitelor regimuri alimentare (în grame, medie $\pm$ abatere standard).

În ziua 35, creșterea la lotul HFD a continuat să fie mai evidentă vs. SD ($4,28 \pm 0,71\%$ vs. $3,31 \pm 0,19\%$, $P < 0,01$) și vs. n-3 ($2,72 \pm 0,50\%$, $P < 0,05$ vs. SD). Adăugarea de n-3 PUFA la HFD a oferit o ușoară protecție împotriva creșterii excesive (HFD + n-3: $3,30 \pm 0,78\%$ creștere

săptămânală, $P < 0,05$ vs. HFD). PUFA a oferit o protecție relativă împotriva creșterii excesive la lotul CA1 ($2,83 \pm 1,06\%$ e, $P < 0,05$ vs. HFD), dar în lotul CA2, care a primit jumătate din doza n-3 PUFA administrată lotului CA1, efectul a fost nesemnificativ ($3,03 \pm 1,41\%$). În ultima săptămână, cea mai mare creștere a masei corporale a fost observată tot la lotul HFD ($4,21 \pm 0,53\%$, $P < 0,01$ vs. SD, cu doar $1,96 \pm 0,49\%$ creștere, $P < 0,001$ vs. n-3, cu doar $1,02 \pm 0,51\%$ creștere). În lotul HFD + n-3, creșterea a fost $3,26 \pm 1,21\%$, nesemnificativ inferioară față vs. HFD, dar mai mare față de n-3 ($P < 0,001$) și lotul SD ($P < 0,05$). Adaosul PUFA, 50 mg/kg/zi la dieta standard a oferit o protecție relativă contra excesului ponderal la lotul CA1 ($1,95 \pm 0,35\%$, $P < 0,05$ vs. HFD + n-3, $P < 0,001$ vs. HFD, $P < 0,01$ vs. n-3); la lotul CA2, care a primit jumătate din doza n-3 PUFA primită de lotul CA1, a existat protecție împotriva creșterii ponderale vs. HFD ($P < 0,01$, $2,24 \pm 1,25\%$ creștere săptămânală).

Tabelul 6.II. Procente de creștere ponderală săptămânală și procentul de creștere în cele 6 săptămâni la loturile expuse la diferite diete. Datele sunt exprimate ca medie și deviație standard, cât și ca mediană și quartile (q1-q3) pentru prima săptămână, când valorile nu prezintă distribuție normală la 4 din cele 6 loturi (căsuțe marcate pe culoare închisă), o astfel de situație fiind înregistrată doar sporadic în restul seturilor de date. Legendă: (scădere) ↓ - $P < 0,05$; ↓↓ - $P < 0,01$; ↓↓↓ - $P < 0,001$; (creștere) ↑ - $P < 0,05$; ↑↑ - $P < 0,01$; ↑↑↑ - $P < 0,001$

	SD	n3	HFD	HFD+n3	CA1	CA2
ziua 7 vs. ziua 0	14,02 (13,83 - 14,53)	14,02 (13,61 - 16,02)	13,98 (13,72 - 19,57)	14,57 (13,61 - 20,11)	14,02 (13,83 - 21,35)	13,94 (13,61 - 17,55)
ziua 14 vs. ziua 7	7,17±0,57	6,29±1,00 ↓ vs. SD	9,73±3,54 ↑ vs. SD ↑↑ vs. n3	7,72±3,70	7,39±2,43	10,03±3,72 ↑ vs. SD ↑↑ vs. n3
ziua 21 vs. ziua 14	4,90±0,18	3,59±1,31 ↓ vs. SD	8,03±3,82 ↑ vs. SD ↑↑ vs. n3	4,10±1,05 ↓ vs. HFD	5,83±2,26	4,23±2,41 ↓ vs. HFD
ziua 28 vs. ziua 21	3,68±0,20	2,44±1,61 ↓ vs. SD	5,94±2,00 ↑↑ vs. SD ↑↑ vs. n3	3,62±1,31 ↓ vs. HFD	4,14±2,32	3,36±1,10 ↓↓ vs. HFD
ziua 35 vs. ziua 28	3,31±0,19	2,72±0,51 ↓ vs. SD	4,28±0,71 ↑↑ vs. SD ↑↑ vs. n3	3,30±0,78 ↓ vs. HFD	2,83±1,06 ↓ vs. HFD	3,03±1,42
ziua 42 vs. ziua 35	1,96±0,49	1,02±0,51 ↓↓ vs. SD	4,22±0,53 ↑↑↑ vs. SD ↑↑↑ vs. n3	3,26±1,21 ↑ vs. SD ↑↑ vs. n3	1,89±0,84 ↓↓↓ vs. HFD ↓ vs. HFD+n3	2,24±1,25 ↓↓ vs. HFD
ziua 42 vs. ziua 0	28,70±0,97 %	25,39±1,67 % p<0,01 vs. SD	36,08±1,92% p<0,001 vs n3 p<0,001 vs. SD	30,33±2,06 % p<0,01 vs. n3	29,39±2,07% p<0,01 vs. n3 p<0,001 vs. HFD	30,68±2,30% p<0,01 vs. n3 p<0,01 vs. HFD

Concentrația **colesterolului total seric** a fost **inițial** similară la cele 6 loturi (între 78 și 103mg/dL; Tabelul 6.III.). **După 14 zile**, a crescut nesemnificativ la lotul SD ($90,5 \pm 6,13$ vs. $87,8 \pm 5,43$ mg/dL, $P = 0,07$). La lotul n-3, a scăzut vs. inițial ($84,1 \pm 5,08$ vs. $88,6 \pm 6,17$ mg/dL, $P < 0,05$) și vs. SD ($P < 0,05$). La loturile HFD și CA2, a fost $111,8 \pm 8,35$ mg/dL, respectiv, $114,7 \pm 8,62$ mg/dL, mai mare vs. inițial și vs. SD ($P < 0,001$). La loturile CA1 și HFD + n-3, PUFA a protejat ușor contra creșterii CT ($95,7 \pm 7,13$, respectiv, $96,8 \pm 7,91$ mg/dL, $P < 0,001$ vs. HFD și CA2, dar CT a crescut vs. inițial – $P < 0,05$ și vs. n-3 – $P < 0,001$ și SD – $P < 0,05$). **După 28 zile**, la lotul HFD a continuat creșterea CT ($137,375 \pm 12,73$ mg/dL, $P < 0,001$ vs. 14 zile înainte). La lotul n-3, CT a fost neschimbat vs. 14 zile înainte ($82,625 \pm 4,90$ mg/dL, semnificativ mai scăzut, $P < 0,01$ vs. SD, cu $93,375 \pm 6,48$ mg/dL). La lotul HFD + n-3, CT a fost $100,75 \pm 6,86$ mg/dL, nesemnificativ mai mare vs. 14 zile înainte, dar mai mic ($P < 0,001$) vs. HFD. Chiar dacă la lotul HFD + n-3, creșterea TC nu a fost la fel de evidentă ca la lotul

HFD, a existat o creștere semnificativă vs. Inițial ($P<0.05$), vs. control SD ($P<0.05$) și vs. n-3 ($P<0.001$). La loturile CA1 și CA2, CT a fost $111,5\pm 8,67$, respectiv, $71,75\pm 8,71$ mg/dL, mai mare ($P<0,05$) vs.HFD + n-3, dar mult mai mic ($P<0,001$) vs.HFD. **După 42 zile**, la lotul HFD a continuat creșterea CT ($151,17\pm 10,09$ mg/dL, $P<0,01$ vs. 14 zile înainte). Creșterea, deși semnificativă, a fost mai puțin evidentă vs. etapele anterioare. La loturile pe dietă standard, dar cu suplimentare n-3 pe parcursul respectivei etape, CT a fost nemodificat vs. 14 și 28 de zile în urmă, sugerând că 14 zile de suplimentare PUFA sunt insuficiente pentru protecție contra CT crescut la animale cu dietă normală. La lotul HFD + n-3, CT a fost $115,67\pm 6,15$ mg/dL, mai mic vs. HFD ($P<0,001$) și mai mare vs. 14 zile înainte ($P<0,05$). Pentru loturile CA1 și CA2, CT a fost de $103,5\pm 7,68$, respectiv, $110,167\pm 8,06$ mg/dL, nesemnificativ mai mic vs. 14 zile înainte (după 28 zile de dietă hiperlipidică, revenirea la dieta normală, chiar și în condiții de suplimentare PUFA, 14 zile nu au fost suficiente pentru ameliorarea valorilor CT).

Tabelul 6.III. Concentrația colesterolului total (TC)(mg/dL), medie $\pm$ deviație standard, inițial și după 14, 28 și 42 de zile. Legendă: vs. **2 săptămâni** înainte: (scădere) $\downarrow$ $-P<0,05$; $\downarrow\downarrow$ $-P<0,01$; $\downarrow\downarrow\downarrow$ $-P<0,001$; (creștere) $\uparrow$ $-P<0,05$; $\uparrow\uparrow$ $-P<0,01$; $\uparrow\uparrow\uparrow$ $-P<0,001$; vs. **SD**: (scădere) $\searrow$ $-P<0,05$; $\searrow\searrow$ $-P<0,01$; $\searrow\searrow\searrow$ $-P<0,001$; (creștere) $\nearrow$ $-P<0,05$; $\nearrow\nearrow$ $-P<0,01$; $\nearrow\nearrow\nearrow$ $-P<0,001$; pentru **HFD + n3, CA1 și CA2, Pvs. HFD**: (scădere) $<$ $-P<0,05$; $<<$ $-P<0,01$; $<<<$ $-P<0,001$; (creștere) $>$ $-P<0,05$; $>>$ $-P<0,01$; $>>>$ $-P<0,001$.

Lot	SD	n3	HFD	HFD + n3	CA1	CA2
inițial	87,8 $\pm$ 5,43	88,6 $\pm$ 6,17	89 $\pm$ 5,62	88,4 $\pm$ 8,47	88,1 $\pm$ 5,82	87,6 $\pm$ 5,60
14 zile	90,9 $\pm$ 6,13	83,9 $\pm$ 4,12 $\downarrow$ $\searrow$	111,8 $\pm$ 8,35 $\uparrow\uparrow\uparrow$ $\nearrow\nearrow\nearrow$	97,9 $\pm$ 6,45 $\uparrow$ $\nearrow$ $<<<$	97,8 $\pm$ 6,64 $\uparrow$ $\nearrow$ $<<<$	114,7 $\pm$ 8,62 $\uparrow\uparrow\uparrow$ $\nearrow\nearrow\nearrow$ $<<<$
28 zile	93,375 $\pm$ 6,48	82,625 $\pm$ 4,89 $\searrow\searrow$	137,375 $\pm$ 12,73 $\uparrow\uparrow\uparrow$ $\nearrow\nearrow\nearrow$	100,375 $\pm$ 7,61 $\uparrow$ $\nearrow$ $<<<$	111,5 $\pm$ 8,67 $\uparrow\uparrow\uparrow$ $\nearrow\nearrow\nearrow$ $<$	111,75 $\pm$ 8,71 $\nearrow\nearrow\nearrow$ $<<<$
42 zile	94 $\pm$ 6,90	81,83 $\pm$ 5,91 $\searrow$	151,167 $\pm$ 10,09 $\uparrow\uparrow$ $\nearrow\nearrow$	115,667 $\pm$ 6,15 $\uparrow\uparrow$ $\nearrow\nearrow$ $<<<$	103,167 $\pm$ 7,68 $<$	110,167 $\pm$ 8,06 $\nearrow\nearrow$ $<<<$

Concentrația **colesterolului HDL** a fost **inițial** similară la cele 6 loturi (între 41 și 64mg/dL; Tabelul 6.IV.). **După 14 zile**, nu au fost modificări la lotul SD; la loturile HFD și CA2, a scăzut nesemnificativ, atât vs. inițial, cât și vs. SD; la loturile CA1 și HFD + n-3, scăderile au fost chiar mai mici decât la HFD și CA2 (nesemnificativ modificate vs. inițial, SD, HFD și CA2). Pentru lotul n-3, HDL au fost mai mare vs. inițial ($55,7\pm 5,22$ vs. $51,6\pm 4,177$ mg/dL, $P<0,05$) și vs. SD, HFD și CA2 ($P<0,05$), dar nesemnificativ diferit vs. HFD + n-3 sau CA1. **După 28 zile**, lotul n-3 a avut HDL mai mare vs. SD ($6,375\pm 4,10$ vs. $52,625\pm 8,38$ mg/dL, $P<0,05$) și vs. 14 zile înainte ($P<0,05$) și vs. inițial ($P<0,001$). La lotul HFD, valorile au fost $41,75\pm 6,16$ mg/dL, mai mici vs. SD ($P<0,05$) și vs. 14 zile ($P<0,05$) și 28 zile ($P<0,01$) anterior. În acel moment al experimentului, efectul protector diete echilibrate, combinată cu suplimentarea PUFA vs. lotul HFD fără protecție ω -3 a devenit mai evidentă vs. 14 zile anterior ($P<0,001$ n-3 vs. HFD). La lotul HFD + n-3, HDL a fost $50,325\pm 5,58$ mg/dL, nesemnificativ mai mic vs. 14 și 28 de zile înainte, dar mai mare vs. HFD ($P<0,05$) și inferior vs. n-3 ($P<0,001$). Pentru lotul CA1, a fost $45,875\pm 5,28$ mg/dL, nesemnificativ mai mici vs. HFD + n-3 și vs. cu 14 zile înainte, dar semnificativ mai scăzut vs. inițial ($P<0,01$). La lotul CA2, valorile au fost de $47,625\pm 6,59$ mg/dL, similare vs. inițial, vs. HFD, HFD + n-3 și CA1, dar semnificativ mai mic vs. n-3 ($P<0,001$). **După 42 zile**, creșterea HDL la lotul n-3 a fost mai evidentă, atât vs. SD ($63,83\pm 4,45$ vs. $50,5\pm 6,77$ mg/dL, $P<0,01$), cât și vs. inițial ($P<0,01$). Chiar dacă HDL a crescut evident vs. inițial și vs. 28 zile înainte ($P<0,01$), a crescut doar nesemnificativ vs. 14 zile anterior. La lotul HFD, HDL a continuat scăderea ($40,33\pm 4,32$ mg/dL, mai mic vs. SD $-P<0,05$, vs. inițial $-P<0,01$ și vs. 28 de zile înainte $-P<0,01$, dar nesemnificativ modificat vs. 14 zile înainte). La lotul HFD + n-3, HDL a fost $47,83\pm 4,71$ mg/dL, nesemnificativ modificat vs. 14 și 28 de zile înainte, dar

semnificativ mai mare vs. HFD ($P<0,05$) și inferior vs. n-3 ($P<0,001$) și vs. inițial ($P<0,05$). La lotul CA1, a fost $56\pm3,16\text{mg/dL}$, mai mare vs. HFD + n-3 ($P<0,01$), vs. HFD ($P<0,001$), vs. 14 și 25 zile înainte ($P<0,05$), dar nesemnificativ modificat vs. inițial. La lotul CA2, a fost $50,67\pm5,61\text{mg/dL}$, modificat nesemnificativ vs. inițial, vs. 14 și 28 zile înainte și vs. CA1, dar mai mic vs. n-3 ($P<0,01$) și mai mare vs. HFD ($P<0,01$).

Tabelul 6.IV. Concentrațiile pentru HDL-colesterol. Notațiile sunt similare cu **Tabelul 6.III.**

Lot	SD	n-3	HFD	HFD + n-3	CA1	CA2
inițial	$50,5\pm4,01$	$51,6\pm4,76$	$50,9\pm4,98$	$51,9\pm4,15$	$52,7\pm4,88$	$49,1\pm5,67$
14 zile	$49,8\pm3,85$	$55,7\pm5,51\uparrow\uparrow$	$49,7\pm5,62$	$52,4\pm6,82$	$52,8\pm7,35$	$48,8\pm5,57$
28 zile	$52,625\pm8,38$	$62,375\pm4,10\uparrow\uparrow$	$41,75\pm6,16\downarrow$	$45,875\pm5,58\uparrow$ >	$45,875\pm5,28\uparrow\uparrow$	$47,625\pm6,59\uparrow\uparrow$
42 zile	$50,5\pm6,77$	$63,83\pm4,45\uparrow\uparrow$	$40,33\pm4,32\downarrow$	$47,83\pm4,71\uparrow\uparrow$ >	$56\pm3,16\uparrow$ >>>	$50,67\pm5,61\uparrow$ >>

Tabelul 6.V. Concentrațiile pentru LDL-colesterol. Notațiile sunt similare cu **Tabelul 6.III.**

Lot	SD	n-3	HFD	HFD + n-3	CA1	CA2
inițial	$27,3\pm4,83$	$27,2\pm4,28$	$26,7\pm5,83$	$26,2\pm7,05$	$26,4\pm6,33$	$25,7\pm2,83$
14 zile	$28,1\pm3,10$	$24,1\pm3,31\downarrow$ $\downarrow$	$34,4\pm3,10\uparrow\uparrow\uparrow$ $\uparrow\uparrow\uparrow$	$31,2\pm3,33\uparrow$ $\uparrow\uparrow\uparrow$ <	$31,2\pm2,58\uparrow$ $\uparrow$ <	$33,8\pm2,90\uparrow\uparrow\uparrow$ $\uparrow\uparrow\uparrow$
28 zile	$27\pm3,55$	$16,875\pm5,38\downarrow\downarrow\downarrow$ $\downarrow\downarrow\downarrow$	$45,625\pm4,90\uparrow\uparrow$ $\uparrow\uparrow\uparrow$	$38\pm4,14\uparrow\uparrow$ $\uparrow\uparrow\uparrow$ <<	$42\pm4,57\uparrow\uparrow\uparrow$ $\uparrow\uparrow\uparrow$	$41,125\pm2,69\uparrow\uparrow\uparrow$ $\uparrow\uparrow\uparrow$ <
42 zile	$27,3\pm4,83$	$27,2\pm4,28\downarrow\downarrow\downarrow$	$26,7\pm5,83\uparrow\uparrow\uparrow$	$26,2\pm7,05\uparrow$ <	$26,4\pm6,33\uparrow\uparrow\uparrow$ <<<	$25,7\pm2,83\uparrow\uparrow\uparrow$ <<<

Concentrația **colesterolului LDL** a fost **inițial** similară la cele 6 loturi (între 15 și 39mg/dL ; Tabelul 6.V.). După **14 zile**, la lotul SD a crescut nesemnificativ ($28,1\pm3,11$ vs. $27,3\pm4,83\text{mg/dL}$, $P=0,07$). La lotul n-3, LDL a fost mai mic decât vs. inițial ($24,1\pm3,31$ vs. $27,2\pm4,29\text{mg/dL}$, $P<0,05$) și vs. SD ($P<0,05$). La loturile HFD și CA2, a fost $34,4\pm3,10$, respectiv, $33,8\pm2,90\text{mg/dL}$, mai mare vs. inițial și vs. SD ($P<0,001$). La loturile CA1 și HFD + n-3, PUFA a indus protecție relativă contra creșterii LDL ($31,2\pm3,33$ și respectiv $31\pm2,58\text{mg/dL}$, valori mai mici – $P<0,05$ vs. HFD și CA2, dar mai mari vs. inițial – $P<0,05$, vs. n-3 – $P<0,001$ și SD – $P<0,05$). După **28 zile**, a continuat creșterea LDL la lotul HFD ($45,625\pm4,90\text{mg/dL}$, $P<0,01$ vs. 14 zile înainte). La lotul n-3, a fost $16,875\pm5,38\text{mg/dL}$, mai mic vs. 14 zile înainte ($P<0,01$) și vs. SD ($27\pm3,54\text{mg/dL}$, $P<0,001$). La lotul HFD + n-3, LDL a fost $38\pm4,14\text{mg/dL}$, mai mare vs. 14 zile înainte ($P<0,001$), dar mai mic vs. HFD ($P<0,01$). Deci, față de 14 zile anterior, la lotul HFD + n-3, creșterea LDL a fost la fel de evidentă ca la lotul HFD, crescând vs. inițial ($P<0,01$) și vs. SD și n-3 ($P<0,001$). Pentru loturile CA1 și CA2, LDL a fost $42\pm4,57$, respectiv, $41,125\pm2,69\text{mg/dL}$ (nesemnificativ mai mare vs. lotul HFD + n-3 și nesemnificativ mai mic vs. HFD). După **42 zile**, LDL a crescut vs. inițial la lotul SD ($30,83\pm2,86$ vs. $27,3\pm4,83\text{mg/dL}$, $P<0,05$). La lotul HFD, a continuat creșterea LDL ($57,17\pm4,96\text{mg/dL}$, $P<0,01$ vs. 14 zile înainte). La lotul n-3, LDL a crescut vs. inițial ($P<0,01$) și vs. 28 de zile înainte ($P<0,05$), dar a crescut doar nesemnificativ vs. 14 zile înainte. La lotul HFD + n-3, a fost $49,17\pm5,85\text{mg/dL}$, mai mic vs. HFD ($P<0,05$) și mai mare vs. 14 zile înainte ($P<0,05$). La loturile CA1 și CA2, a fost inferior vs. HFD + n-3 ($P<0,01$) și vs. HFD ($P<0,001$), dar nesemnificativ mai mic vs. 14 zile înainte ($36,67\pm5,28$, respectiv $40,33\pm2,50\text{mg/dL}$).

Concentrația **trigliceridelor serice** a fost inițial similară la cele 6 loturi (între 51 și 76mg/dL ; Tabelul 6.VII). După **14 zile**, nu au fost modificări la lotul SD. La lotul n-3, TG a fost mai mici vs. inițial ($57,6\pm4,09$ vs. $63,5\pm7,37\text{mg/dL}$, $P<0,05$) și vs. SD ($57,6\pm4,09$ vs.

66±4,69mg/dL, $P<0,05$). La loturile HFD și CA2, TG au fost 75,4±5,48, respectiv, 75,6±5,66mg/dL, mai mari vs. inițial și vs. SD ($P<0,01$). La loturile CA1 și HFD + n-3, PUFA n-3 nu a protejat contra creșterii TG (valori: 70,9±5,30, respectiv, 71,7±5,62mg/dL, doar ușor mai mici – $P>0,05$, vs. HFD și CA2 și semnificativ mai mari vs. inițial – $P<0,01$, vs. n-3 și SD – $P<0,001$). După **28 zile**, la lotul HFD, TG au continuat creșterea (90,625±6,02mg/dL, $P<0,001$ vs. 14 zile înainte). La lotul n-3, au scăzut nesemnificativ vs. 14 zile înainte (55,375±6,05mg/dL), dar semnificativ, $P<0,05$ vs. SD (SD: 67±10,04mg/dL). La lotul HFD + n-3, TG au fost 83,625±6,82mg/dL, mai mari vs. 14 zile înainte ($P<0,001$), dar au fost mai mici ($P<0,05$) vs. HFD. La loturile CA1 și CA2, TG au fost 86,625±11,67, respectiv, 85±9,40mg/dL, similare vs. HFD și HFD + n-3 și mai mari vs. 14 zile înainte ($P<0,01$). La **42 zile**, la lotul HFD, a continuat creșterea TG (104±7,56mg/dL, $P<0,01$ vs. 14 zile înainte), dar aceasta a fost mai puțin evidentă vs. 14 zile anterior. La lotul n-3, TG au fost nesemnificativ mai mici vs. 14 zile înainte, dar semnificativ mai mici vs. martor (49,33±6,05 vs. 65±10,16mg/dL, $P<0,01$) și vs. inițial ($P<0,01$) și vs. 28 de zile înainte ($P<0,05$). La lotul HFD + n-3, TG au fost 91±8,56mg/dL, mai mici vs. HFD ($P<0,05$) și nesemnificativ mai mari vs. 14 zile înainte. Deci, protecția PUFA n-3 în condiții de dietă hiperlipidică asupra creșterii TG pare să fie evidentă doar după 4 săptămâni. Suplimentarea cu PUFA pe fondul revenirii la dieta echilibrată, după 28 zile de aport lipidic crescut, a indus un efect benefic, de scăderea TG serice, dependent de doză: la lotul CA1, TG au fost 73±4,52mg/dL, mai mici vs. HFD ($P<0,001$) și vs. HFD + n-3 ($P<0,01$) și vs. 14 zile înainte ($P<0,05$); la lotul CA2, au fost 83,33±7,47mg/dL, mai mici vs. HFD ($P<0,001$) și vs. CA1 ($P<0,05$), dar nesemnificativ scăzute vs. HFD + n-3 și vs. 14 zile înainte.

Tabelul 6.VII. Concentrația pentru ale trigliceridelor serice. Notațiile sunt similare cu **Tabelul 6.III.**

	SD	n-3	HFD	HFD + n-3	CA1	CA2
inițial	64,8±8,63	63,5±7,37	65,6±5,95	62,9±3,96	62,7±5,44	66,6±4,43
14 zile	66±8,69	57,6±4,09↓ ↘	75,2±5,61↑↑ ↗↗	70,9±5,30↑↑	71,7±5,62↑↑	75,6±5,67↑↑ ↗↗
28 zile	67±10,4	55,375±6,05 ↘	90,625±6,02↑↑↑ ↗↗↗	83,625±6,82↑↑↑ ↗↗ <	86,625±11,67↑↑↑ ↗↗	85±9,40↑↑ ↗↗↗ <<<
42 zile	65±10,16	49,33±6,4 ↘↘	104±7,56↑↑ ↗↗↗	91±8,56 ↗↗↗ <	73±4,52↓ <<<	83,33±7,47 ↗↗ <<<

Examen histopatologic

La nici unul din timpi, examinarea brută sub lupă nu a observat modificări ale grosimii peretelui aortic. Nu s-au observat trombi aderenți recent sau organizat în eșantionul aortic. După 14 zile, s-au relevat modificări nesemnificative ale grosimii peretelui. Probele de aortă toracică din toate loturile au arătat 6-8 straturi de collagen în tunică medie (Fig. 6.X.a). La loturile SD și n-3, numărul straturilor a rămas constant pe parcurs. După 28 de zile, grosimea peretelui a crescut la unele animale: un număr crescut de straturi de collagen (8-12 straturi) și modificări hidropice ale fibrelor musculare netede au fost observate în loturile HFD + n-3, CA1 și CA2 (Fig. 6.X.b) și un număr crescut de straturi de collagen (12-13 straturi) lotul HFD (Fig. 6.X.c). În toate probele lotului de studiu, stratul intim a fost continuu; deși zona endotelială a fost întreruptă focal, nu a existat o rețea de fibrină aderentă membranei bazale. Nu s-au observat infiltrate inflamatorii (neutrofile sau limfocite) și nici celule spumoase (macrofage) în secțiunile examinate. Deși fibrele musculare netede au continuat să prezinte hipertrofie sau vacuolizare hidropică în ziua 42, numărul straturilor de collagen a scăzut la 8-10 în loturile HFD + n-3 și CA1, la 8-11 la lotul CA2 și la 10-12 la lotul HFD (Fig. 6.X.d). Nu s-au observat leziuni (plăci) aterosclerotice la niciunul din fragmentele examinate.

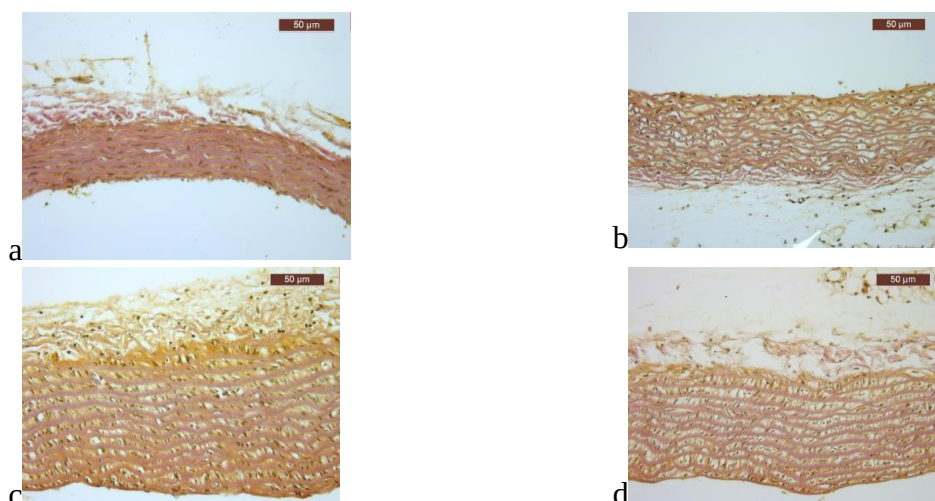


Fig. 6.X. Aspecte histopatologice ale modificărilor aortice (colorație cu tricrom van Gieson), la diverse momente și diverse loturi, selecție a unor imagini semnificative de microscopie optică: (a) aorta normală după primele 14 zile, toate loturile; (b) aorta îngroșată (12 straturi de collagen și fibre musculare netede vacuolate) la un animal din lotul HFD după 28 de zile; (c) aorta îngroșată la un animal din lotul HFD + n-3 după 28 de zile; (d) aorta îngroșată la un animal din lotul CA2 la sfârșitul experimentului

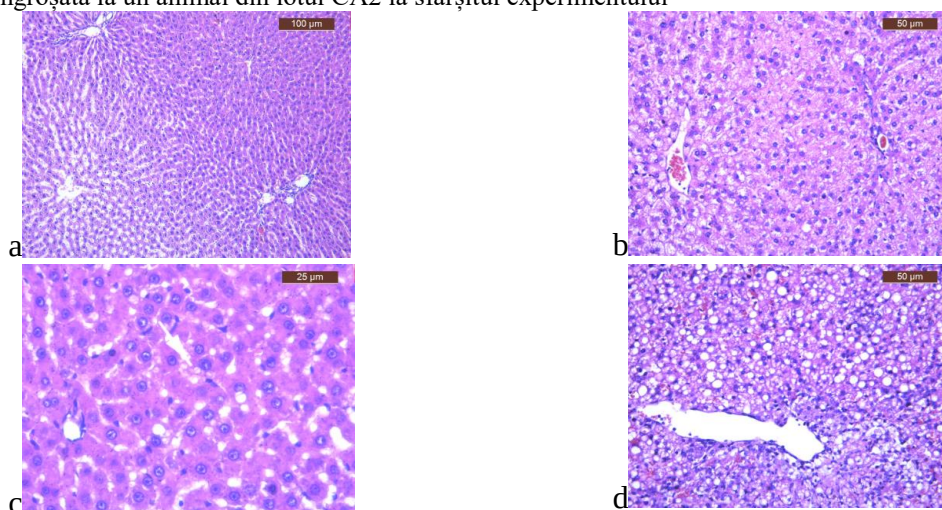


Fig. 6.XI. Morfologia hepatică la diverse momente și diverse loturi, selecție a unor imagini semnificative de microscopie optică. (a) ficatul normal la loturile SD și n-3; (b) modificare hidropică difuză (indicată prin săgeți) după 28 de zile la loturile HFD + n-3 și CA1; (c) modificări grase microvesiculare de gradul I la lotul HFD, la 28 de zile de la aplicarea dietei hiperlipidice, fără suplimentare cu acizi grași nesaturați de tip ω -3 (a doua etapă); (d) modificarea grasă macrovesiculară difuză, stadiul III, la lotul HFD la 42 de zile

Nu au fost observate modificări ale țesutului hepatic la loturile SD și n-3 în timpul experimentului (Fig. 6.XI.a.). La sfârșitul celei de-a doua faze, s-au observat modificări hidropice ale hepatocitelor în loturile HFD și CA2 (Fig. 6.XI.b.), în timp ce în loturile HFD-n-3 și CA1, s-au observat modificări focale de tip gras microvesicular în hepatocitele din jurul venei centro-lobulare (modificare grasă de gradul I, <33% din hepatocite) (Fig. 6.XI.c.). După 42 de zile, s-a constatat modificări grasoase hepatice de gradul III, microvesiculare, la loturile HFD + n-3 și CA2 și s-a observat modificare macrovesiculară de gradul III (difuz, > 80% din hepatocite) în lotul HFD (Fig. 6.XI.d.). Arhitectura normală fără modificări grase în hepatocitele hepatice a fost observată la lotul CA1 la sfârșitul experimentului.

6.5. Discuții

Am demonstrat un efect pozitiv clar indus de PUFA, dependent de doză și durata administrării, împotriva excesului ponderal, a creșterii TG, CT și a LDL-colesterolului seric și scăderii HDL și rolul său benefic prin atenuarea ateromatozei și modificărilor de tip ficat gras la șobolani cu dietă hipercolesterolică. Protecția indusă de PUFA în condiții de dietă

hiperlipidică, deși evidentă, este departe de a contracara consecințele excesului lipidic. Efectul benefic apare chiar când PUFA e administrat ca supliment la dieta standard timp de 14 zile, dar după 28 de zile pe dietă hipercolesterolică (mai evident la doza de 50 mg/kg/zi, decât la 25 mg/kg/zi).

Creșterea ponderală a fost observată la toate animalele (așteptabil– se aflau în perioada de creștere, având vârsta de 6 săptămâni la începutul experimentului), dar a fost mai evidentă pe dietă hipercolesterolică, PUFA oferind protecție relativă contra excesului ponderal indus de o astfel de dietă. Atenuarea creșterii ponderale de către PUFA a fost observată și pe dietă clasică.

Numeroase studii experimentale au raportat un efect protector al PUFA n-3 împotriva creșterii ponderale, în condiții dietetice obișnuite (Fappi et al., 2014) și hiperlipidice (Bjursell et al., 2014; Yang et al., 2016), existând însă și rezultate diferite: PUFA adăugat la dieta hiperlipidică, timp de 13 săptămâni, induce o ușoară (dar nesemnificativă) creștere ponderală (Chacińska et al., 2019); s-a raportat creștere ponderală crescută prin aplicarea unei diete hiperlipidice bogate în PUFA n-3, dar în acel studiu PUFA n-3 s-a administrat în doză considerabil mai mare vs. studiul curent, cu creștere a aportului caloric (Taouis et al. 2002); o dietă bogată în acid α -linolenic, cu 7% PUFA a indus creștere ponderală superioară hranei standard (Mentang et al., 2011). În studiile clinice, eficacitatea PUFA în stimularea pierderii ponderale e documentată în principal pe dietă echilibrată (Thorsdottir et al., 2007), PUFA fiind eficient mai ales în special în reducerea grăsimii abdominale, cu precădere când e combinat cu modificări sanogene ale stilului de viață (Du et al., 2015). Alte studii raportează lipsa eficacității a PUFA în promovarea pierderii ponderale la bărbați (Parker et al., 2019) și școlari (Svensson et al., 2018).

Tabelul 6.VIII. Sinteza a modificărilor suferite de loturile de șobolani, după 14, 28 și 42 de zile de aplicare a diferitelor diete, după diverse diete și protocoale, ca urmare a diverselor tratamente primit

Moment de timp față de începerea aplicării diverselor diete						
Lot	14 zile		28 zile		42 zile	
	Aortă	Ficat	Aortă	Ficat	Aortă	Ficat
SD	7-8 straturi, mușchi neted / collagen	Normal	8 straturi	Normal	7-8 straturi	Normal
n3	7-8 straturi, mușchi neted / collagen	Normal	7-8 straturi	Normal	6-8 straturi	Normal
HFD	7-8 straturi, mușchi neted / collagen	Normal	12-13 straturi, fibrele musculare netede vacuolate	Modificare grasă focală (periferia venei centrale)	10-12 straturi, fibrele musculare netede hipertrofiate și vacuolate	Modificări grase micro și macrovesiculare
HFD+n3	7-8 straturi, mușchi neted / collagen	Normal	8-11 straturi, fibrele musculare netede hipertrofiate și vacuolate	Modificare hidropică	8-10 straturi, fibrele musculare netede hipertrofiate	Modificări grase micro și macrovesiculare
CA1	7-8 straturi, mușchi neted / collagen	Normal	8-11 straturi, fibrele musculare netede hipertrofiate și vacuolate	Modificare hidropică	8-10 straturi, fibrele musculare netede hipertrofiate	Normal
CA2	7-8 straturi, mușchi neted / collagen	Normal	12 straturi, fibrele musculare netede hipertrofiate și vacuolate	Modificare grasă focală (periferia venei centrale)	8-11 straturi, fibrele musculare netede hipertrofiate și vacuolate	Modificări grase micro și macrovesiculare

Se impune o apreciere a mecanismelor prin care PUFA n-3 contribuie la atenuarea

excesului ponderal. EPA și DHA au o varietate de beneficii, prin reducerea markerilor inflamației atât în sânge, cât și în țesutul adipos alb (Awada et al., 2013). Inflamația cronică și stresul oxidativ sunt factori majori în patogeneza mai multor boli metabolice (obezitate, dislipidemii, diabet zaharat de tip 2) și cardiovasculare. Nivelurile ridicate de citokine pro-inflamatorii și chemokine, precum interleukinele (în special IL-6), proteina chemotactică a monocitelor-1 (MCP-1), adiponectina și leptina au un rol cheie în reglarea în sens nefavorabil a metabolismului sistemic și energetic în aceste afecțiuni. O ipoteză are în vedere influența PUFA n-3 asupra microbiotei intestinale (Wan et al., 2017).

În studiul actual, PUFA ω -3 au indus o scădere mai pronunțată a LDL decât a CT pe dietă clasică, situația fiind invers pe dietă hiperlipidică. Cum PUFA crește în general HDL, apare logic că PUFA n-3, în cazul alimentației hiperlipidice, scade și alte fracții ale colesterolului, neevaluate aici (VLDL, IDL și chilomicronii – particule cu conținut ridicat de TG). O situație interesantă a fost la animalele cu dietă mixtă: 28 zile de dieta hiperlipidică induc modificări ale lipidelor serice ce nu sunt ameliorate, după revenirea la dieta standard, de suplimentarea PUFA, exceptând o creștere ușoară a HDL și scădere a TG ($P < 0,05$) la doza de 50mg/kg/zi. Din perspectiva altor studii privind efectul AG ω -3 asupra fracțiilor de colesterol, menționăm: PUFA, adăugat dietelor cu un conținut în colesterol scăzut, moderat sau ridicat crește HDL (Surette et al., 1992), însă uleiului din semințe de in (bogat în AG ω -3) nu are efect asupra LDL și HDL pe dietă normală, în timp ce pe dietă hiperlipidică, apar scăderi ale VLDL, LDL și TG (Naik et al., 2018); pe o dietă cu 0,5% colesterol, nu s-a observat scăderea CT de către AG ω -3 (Lin et al., 2005). PUFA ω -6 scad CT mai mult decât PUFA ω -3 pe dietă cu 5% colesterol (Lu et al., 1996).

PUFA e cunoscută reducând TG serice (Harris și Bulchandani, 2006), atât pe dietă standard, cât și hiperlipidică (Naik et al., 2018). Mai multe mecanisme biochimice ar explica efectul, precum fi scăderea secreției VLDL la om; studiile experimentale sugerează: disponibilitatea redusă de AG sau altor substraturi (probabil datorită creșterii β -oxidării), reducerea acumulării hepatice de AG liberi și reducerea sintezei lor hepatice; sinteza crescută de fosfolipide; scăderea activității enzimelor de sintetizare a TG (diacilglicerol aciltransferază sau acid fosfatidic fosfohidrolază). Este dificil de stabilit dacă efectul e mai pregnant la cei cu un nivel inițial ridicat al TG și / sau pe dietă hiperlipidică sau la cei cu profil lipidic normal.

Am demonstrat scăderea ușoară aTG ($P < 0,05$) la 14 sau 28 zile de suplimentare cu PUFA și scăderea mai evidentă ($P < 0,01$) la 42 zile pe dietă standard; pe dietă hipercolesterolică, scăderea TG indusă de PUFA a fost nesemnificativă la 14 zile, devenind evidentă ($P < 0,05$) abia la 28 și 42 zile. La lotul CA1, ultimele 14 zile de suplimentare cu PUFA n-3, 50 mg/kg/zi și stoparea dietei hiperlipidice au fost suficiente pentru a scădea TG la un nivel asemănător animalelor martor, însă nu și la lotul CA2, care a primit doar 25 mg/kg/zi PUFA. Rezultatele noastre privind eficiența mai redusă a PUFA în scăderea TG pe dietă bogată în grăsimi vs. standard sunt în concordanță parțială cu Lin et al., 2005: PUFA n-3 scade TG mai eficient decât PUFA n-6 pe dietă fără colesterol, dar nu și când dietele sunt suplimentate cu 0,5% colesterol.

Studiul histologic a relevat că grosimea aortică a scăzut ușor sau a rămas neschimbată la loturile care au primit n-3 PUFA (n-3, HFD + n-3, CA1 și CA2). Modificările structurale, în special în aortă, se dezvoltă mai lent decât cele biochimice. O dietă bogată în ω -3 are un rol protector împotriva aterogenezei; mecanismele sunt legate de ameliorarea profilului lipidic și de potențarea activității antioxidante, după cum arată studii epidemiologice, clinice și experimentale (Sokoła-Wysoczańska et al., 2018; Torres et al., 2015).

De asemenea, s-a dovedit protecția relativă indusă de PUFA împotriva steatozei hepatice, aparent dependentă de durata suplimentării și doză. Un astfel de efect a fost intens studiat. De exemplu, în studiile experimentale, modificărilor grase hepatice sunt ameliorate de EPA (Kumar et al., 2006) și de semințele de in (Naik et al., 2018). Studii clinice au dovedit

atenuarea modificărilor hepatice și acumulării lipidelor de către PUFA ω -3 (Nogueira et al., 2016, Scorletti et al., 2014 etc.), fiind raportată chiar o reducere a fibrozei hepatice, dar există și dovezi ale unei eficiențe limitate a n-3 PUFA în steatohepatita non-alcoolică (Sanyal et al., 2014). Posibilele mecanisme moleculare implicate în efectul menționat au fost, de asemenea, cercetate intens. Cele mai sugestive ar fi legate de ameliorarea proceselor inflamatorii, oxidative și metabolice la nivel hepatic. PUFA n-3 scade producția de lipide endogene prin inhibarea exprimării și procesării SREBP-1, inhibă glicoliza hepatică și lipogeneza și suprimă activitatea ChREBP (un regulator al genelor unor enzime glicolitice și lipogenice) (Marchisello et al., 2019) și cresc expresia adiponectinei antiinflamatorii (Nogueira et al., 2016).

Puncte forte ale studiului prezent. Unul dintre scopurile principale a fost explorarea posibilelor diferențe privind beneficiile prezumate ale PUFA n-3 în condiții de dietă standard, mixtă și hiperlipidică. Prin design-ul experimentului, s-au conceput două modele de dietă mixtă la șobolani, în încercarea de a simula diversitatea modelelor de hrănire umană. Modelul a implicat o expunere continuă și intermitentă la dietă cu un conținut ridicat de colesterol.

Datele referitoare la *dieta mixtă* (cu un grad mai crescut de similitudine cu tiparul alimentar de zi cu zi), reprezintă **un element de noutate în literatura medicală**.

Rezultatele au arătat că **UP are o eficiență redusă atunci când e administrat în timpul sau urmează după o perioadă de aport ridicat de grăsimi**. Faptul este aparent în acord cu unele cercetări experimentale sau clinice deja citate (Lin et al., 2005; Lu et al., 1996; Thorsdottir et al., 2007; Du et al., 2007). De exemplu, la evaluarea creșterii ponderale la animalele în curs de dezvoltare, lotul n-3 a prezentat creșteri procentuale săptămânale mai mici vs. martor între săptămânile 2 până la 6 (condiții de dietă tipică), dar pe dietă hipercolesterolică, protecția contra creșterii excesive a fost limitată la săptămânile 3 - 5. Suplimentarea cu UP 14 zile (25 sau 50 mg / kg / zi), asociată cu dietă standard, dar după 28 de zile de aport lipidic ridicat, nu potențează scăderea ponderală. După primele 14 zile, PUFA a scăzut TG doar pe dietă normală ($P < 0.05$, SD vs. n-3 grup), pe dietă hipercolesterolică efectul fiind nesemnificativ. PUFA n-3 au scăzut TG mai puțin pe dietă hipercolesterolică vs. normală la 42 de zile (lot n-3 vs. lot SD: $0,001 < P < 0,01$; HFD vs. HFD + n-3: $0,1 < P < 0,05$) și a scăzut LDL mai evident pe dietă normală vs. hipercolesterolică la 28 și 42 de zile. Pe dietă hipercolesterolică, PUFA scade în principal CT, în timp ce scăderea fracției aterogene LDL, chiar dacă semnificativă, nu este la fel de evidentă. Creșterea HDL a fost evidentă abia după 28 de zile de suplimentare cu PUFA pe dietă hipercolesterolică, dar pe dieta normală, a apărut după doar 14 zile.

Limitele studiului. Modelul experimental utilizat e util pentru a înțelege anumite mecanisme și o posibilă relație între expunerea la dieta hiperlipidică și BCV sau hepatosteatoză, respectiv posibilele beneficii ale AG, dar nu reflectă complexitatea factorilor din patologia umană. Nu s-au ținut cont de fumat, efectuarea de exerciții fizice, genetică etc.. Nu au fost determinați markeri inflamatori sau ai stresului oxidativ. Încă o deficiență e că doar două animale au fost sacrificate după fiecare etapă de 14 zile pentru histopatologie. Modificările aterosclerotice și hepatice asociate dietei hiperlipidice se dezvoltă lent în timp (ani); studiul curent a fost limitat la 6 săptămâni. Studiul reproduce situația în care PUFA ω -3 sunt administrați ca supliment alimentar, și nu ca o componentă a așa-numitei diete „sănătoase”.

6.6. Concluzii

Cercetările dovedesc beneficiile metabolice, hepatice și cardiovasculare ale UP bogat în PUFA ω -3; astfel de efecte sunt mai evidente în condiții de dietă echilibrată; UP nu poate contracara pe deplin deprecierea indusă de aportul excesiv de grăsimi în dietă, chiar și atunci când se revine la o alimentație standard după o perioadă de exces de lipidic.

Aceste constatări ale prezentului studiu pledează în favoarea ideii că este preferabilă a se promova, în populația generală, mai multă conștientizare asupra beneficiilor adoptării unei atitudini responsabile față de hrănire și asupra relativei insuficienței a suplimentelor alimentare, atunci când este asociată cu modele alimentare nesănătoase.

CAPITOLUL 7. ALCĂȚUIREA CHESTIONARULUI PENTRU STUDIUL FARMACOEPIDEMIOLOGIC AL CONSUMULUI DE SUPLEMENTE ALIMENTARE PENTRU POPULAȚIA DIN ZONA GEOGRAFICĂ MOLDOVA, ROMÂNIA - STABILIREA ÎNTREBĂRILOR. IDENTIFICAREA CONDIȚIILOR DE APLICARE. STABILIREA EȘANTIONULUI POPULAȚIEI PENTRU APLICARE. VALIDAREA CHESTIONARULUI

7.1. Introducere

Un interes major ar merita atribuit farmacoepidemiologiei și influenței biochimice induse de consumul de suplimente alimentare, în plus față de atenția acordată prevalenței ridicate a consumului acestor produse.

A ne apleca asupra schimbărilor care au condus la creșterea consumului de suplimente alimentare și asupra administrărilor (de multe ori haotică, irațională) devine o necesitate.

7.2. Obiective

Studiul și-a propus alcătuirea unui chestionar pentru populația din zona geografică Moldova, România, pentru studiul farmacoepidemiologic al consumului de SA.

Un prim obiectiv a fost reprezentat de stabilirea, în baza structurii populației la 1 iulie 2011, conform Institutului Național de Statistică, după datele recensământului din octombrie 2011, a numărului minim de participanți, pentru a obține o marjă de eroare de sub 0,05%, cu un interval de încredere de peste 95% și un nivel crescut de reprezentativitate a rezultatelor analizei răspunsurilor pentru caracteristicile reale ale profilului de consum a suplimentelor alimentare.

Ne-am propus validarea chestionarului elaborat.

Obiectivul general al acestui studiu a fost elaborarea și validarea unui chestionar în vederea evaluării epidemiologiei consumului de SA pentru populația din Moldova, România, pentru ca, prin aplicarea acestuia, să se poată identifica factorii legați de această practică.

Următoarele **obiective specifice** au fost propuse pentru atingerea acestui obiectiv general:

O.S.1. Elaborarea unui chestionar pentru populația generală luată în studiu în vederea evaluării epidemiologiei consumului de SA pentru populația din Moldova, România;

O.S.2. Aplicarea chestionarului unui număr de 217 de persoane din populația generală, pentru ca apoi să se aplice un chestionar suplimentar, care să vizeze claritatea întrebărilor adresate în cadrul chestionarului principal;

O.S.3. Analiza statistică și interpretarea rezultatelor aplicării chestionarului de validare;

O.S.4. Identificarea numărului minim de persoane și a structurii populației căreia ar trebui să i se aplice chestionarul elaborat, în vederea reducerii marjei de eroare privind reprezentativitatea datelor colectate pentru populația generală (o marjă de eroare de 0,05%, cu un interval de încredere de 95%).

7.3. Materiale și metode

Au fost consultate bazele de date din literatura de specialitate privind elaborarea unor studii de simulare pe bază de chestionar, aplicate în alte unități administrativ-teritoriale (Balzo et al., 2014; Kołodziej et al., 2019; Karbownik et al., 2019).

Au fost consultate datele Institutului Național de Statistică, privind la recensământul din octombrie 2011, pentru a se stabili structura populației la nivelul căreia să fie aplicat chestionarul, în vederea reducerii marjei de eroare și a creșterii intervalului de încredere.

Metoda de validare a chestionarului. Pentru definitivarea întrebărilor, este proiectat a se

utiliza utilizat un formular de tip chestionar suplimentar, tip, aplicat unui număr inițial de persoane dintre cele care vor completa între primele chestionarul principal. Numărul va fi direct proporțional cu mărimea calculată pentru eșantionului reprezentativ (minimum 15% din numărul minim de persoane stabilit drept bază de aplicare pentru chestionarul principal). Formularul suplimentar a conținut 6 întrebări legate de claritatea formulării întrebărilor din chestionar, gradul de înțelegere a întrebărilor formulate, aspectul chestionarului (încadrarea întrebărilor, formatul și mărimea literelor), timpul necesar completării întrebărilor din chestionar, relevanța întrebărilor în legătură cu scopul chestionarului și sugestii pentru eventuale îmbunătățiri ale chestionarului. Prin adresarea acestuia, s-a urmărit a se identifica orice ambiguitate în întrebări.

7.4. Rezultate

Stabilirea locului și perioadei de desfășurare a studiului. Acest studiu transversal, pe bază de chestionar autoadministrat, a fost proiectat pentru aplicare în cursul anului în intervalul de timp ianuarie – martie 2014 atât în mediul rural, cât și în cel urban, în 8 județe (Botoșani, Bacău, Galați, Iași, Neamț, Suceava, Vaslui, Vrancea). Numărul persoanelor interogate per județ este stabilit conform anuarului statistic din 2012, și este reprezentativ pentru populația în cauză.

Stabilirea criteriilor de selecție a grupului de studiu. Studiu transversal a fost proiectat pentru aplicare populației adulte (între 20 și 74 de ani).

Criterii de includere: au fost propuse spre introducere în studiu persoanele adulte, cu vârsta peste 20 ani, selectate în mod aleatoriu.

Criterii de excludere: au propuse spre excludere persoanele care faceau parte din categorii de vârstă ce aveau deja numărul necesar de subiecți.

Persoanele care au acceptat să participe au fost informate cu privire la scopul studiului și au fost asigurate în legătură cu confidențialitatea rezultatelor. După obținerea consimțământului lor verbal pentru participarea la studiu, ei au primit chestionarul autoadministrat.

Stabilirea mărimii și structurii eșantionului

Principalele ipoteze de la care am pornit în acest demers au fost: percepția asupra SA variază în funcție de categoria socială; campanii ample de promovare (prin intermediul media) au crescut aproape exponențial cererea de piață a SA; nu întotdeauna alegerea sau percepția consumatorului privind utilitatea și riscul utilizării de SA are o bază rațională adecvată; cunoașterea particularităților de percepție și consum creează premisele pentru eficientizarea acțiunilor de popularizare adecvată a beneficiilor și riscurilor SA; persoanele cu boli cronice ar fi între principalii beneficiarii acestor acțiuni.

Pentru testarea acestor ipoteze am ales un eșantion de tip secțional (care are un design ce permite obținerea unor date cu mare rapiditate, cu costuri relativ scăzute). Se vor utiliza metode cantitative – *ancheta prin chestionar* și *analiza secundară de date cantitative*.

S-a plecat, în efectuarea calculelor, de la premiza că prevalența respondenților care nu au răspuns într-o anchetă de clasă este mai mică de 5%. Numărul minim de persoane a fost calculat în ideea asigurării reprezentativității, în baza teoriei probabilităților, a persoanelor testate pentru totalul populației zonei.

Chestionarul este proiectat pentru fi aplicat unui număr de minim 1066 de indivizi (Bacău – 162; Botoșani – 101; Galați – 137 ; Iași – 187 ; Neamț – 128 ; Suceava – 161 ; Vaslui – 102 ; Vrancea – 88). Valorile au fost stabilite secundar aplicării principiilor menționate.

Ancheta este proiectată să fi de tipul “față în față” și să fie proiectată să fie completată în prezența unei persoane (ajutor), care va avea obligația să asiste respondentul, dar fără a influența în vreun fel buna desfășurare a anchetei. Astfel se va evita existența unor non-răspunsuri, deci eșantionul inițial va rămâne intact.

Un alt subgrup de aproximativ (minimum) 181 de persoane caruia i se va aplica

chestionarul este unul neprobabilistic, selectat prin metoda “bulgărelui de zapadă” și va fi aplicat persoanelor din aceleași comunități, și va avea ca scop consolidarea veridicității și fezabilității studiului. Acest chestionar e conceput a se realiza cu revenire, deoarece există posibilitatea nevalidării unor chestionare.

Întrebările au fost alcătuite urmărind o anumită structură: 6 întrebări sunt cu privire la datele socio-demografice ale respondenților (sex, vârsta, ocupație, studii, venitul lunar în gospodărie); următoarele, incluzând 2 de tip *întrebări deschise* și 18 de tip *întrebări închise* (cu răspunsuri predefinite, adesea pe scale ordinale), vizează estimarea nivelului pentru obiceiuri recreaționale și gradul de mulțumire a persoanelor *vis-a-vis* de anumite aspecte ale calității vieții comunității, ale percepției asupra stării de sănătate proprii și vizează estimări pentru consumul unor SA. Restul întrebărilor sunt de tip *semi-deschise* (cu răspunsuri predefinite, dar care oferă posibilitatea introducerii unor noi tipuri de răspuns), și ajută respondenții la relatarea produselor consumate, pentru a urmări tipul celor mai utilizate SA.

Metoda de elaborare a chestionarului. Chestionarul a fost constituit din 36 de întrebări cu răspunsuri închise sau deschise care au evaluat: caracteristicile demografice: vârsta; mediul de trai (rural, urban); ocupația; nivelul de instruire (studii), venitul lunar în familie; obiceiuri de consum recreațional de tutun, cafea sau alcool; percepția asupra stării de sănătate personale și frecvența evaluării ei și stării de sănătate a comunității, respectiv a evoluției acesteia.

Numeroase întrebări s-au referit la consumul în mod specific a suplimentelor alimentare; acestea vor fi expuse și discutate detaliat în secțiunile capitolului următor.

Rezultate privind validarea chestionarului. În conformitate cu mărimea stabilită de 1066 persoane drept număr minim de repondenți la chestionarul principal și cu procentul de minimum 15% din acestea cărora să li se aplice chestionarul adițional, a rezultat un număr minim de 161 persoane cărora să li se administreze chestionarul de validare. Întrucât s-a estimat un număr mai mare față de minimum de 1066 al celor cărora avea să le fie administrat chestionarul principal, a fost administrat, pe lângă chestionarul principal, cel suplimentar, unui număr de 220 de persoane.

Dintre cele 220 chestionare suplimentare consultate, 15 (6,81% din totalul de chestionare suplimentare aplicate în total) au fost eliminate pentru că nu erau corespunzător completate; în baza celor 205 chestionare suplimentare analizate, au rezultat că chestionarul principal poate fi considerat valid și poate fi aplicat în continuare mai multor persoane (Fig.7.X. – 7.XVI., tabelele 7.XVI - 7.XXI), după aplicarea unor mici modificări, a căror bază rațională e relatată în cele de urmează.

Prima întrebare din formularul pentru validarea chestionarului a fost legată de **gradul de înțelegere** a chestionarului. Peste 95% din repondenții cu formulare validate au indicat un nivel adecvat de formulare a întrebărilor. Pentru a evita eventualele nelămuriri sau neînțelegeri, persoanele care au completat chestionarele au fost îndrumate să ceară informații suplimentare de la persoana responsabilă cu aplicarea chestionarului.

A doua întrebare a vizat **dificultățile de înțelegere ale unor cuvinte**. Mai puțin de 7% din repondenți au indicat prezența cuvintelor cu înțeles neclar. Rugați să le indice, heterogenitatea datelor a fost considerabilă. S-au selectat o serie de cuvinte în cazul cărora persoanele responsabile de aplicarea chestionarelor să indice repondenților din fazele ulterioare ale aplicării chestionarului care este sensul cuvântului în context, mai ales persoanelor ce par a avea un nivel al studiilor redus. S-a renunțat la semnul “>” din variantele de răspuns (fiind înlocuit cu “mai mult de”).

A treia întrebare a vizat **formatul chestionarului și aspectul literelor**. Mai puțin de 6% dintre repondenți au considerat formatul inadecvat. Principala nemulțumire a vizat folosirea unor litere prea mici. În consecință, s-a procedat la printarea unui număr redus de formulare, pentru eventualii repondenți ulteriori cu probleme de vedere, cu font de minimum 16.

Tabelul 7.XVII. Sintează a răspunsurilor la a **doua întrebare** din formularul suplimentar

	Număr de repondenți	Procent (%) din totalul de 205 formulare valide	Procent (%) din totalul de 220 formulare valide și invalidate
Lipsa cuvintelor cu înțeles neclar	191	93,17	86,81
Prezența cuvintelor cu înțeles neclar	14	6,82	6,36

A patra întrebare a luat în analiza *timpul necesar completării chestionarului*.

Tabelul 7.XIX. Sintează a răspunsurilor la a **patra întrebare** din formularul suplimentar

	Număr de repondenți	Procent (%) din totalul de 205 formulare valide	Procent (%) din totalul de 220 formulare valide și invalidate
Prea scurt	1	0,48	0,45
Prea lung	15	7,31	6,81
Optim	189	92,19	85,90

A cincea întrebare a evaluat *gradul de pertinență a chestionarului în raport cu scopul său*. Sub 1% au considerat întrebările ca nefiind pertinente; au fost răspunsuri evazive referitoare la motivarea acestei păreri; concluzia a fost că întrebările nu ar trebui schimbate din motivul lipsei de pertinență.

A șasea întrebare a urmărit să obțină sugestii privind modificări care ar putea îmbunătăți chestionarul din punct de vedere al aspectului dar și al conținutului sau al modului de abordare a întrebărilor. Aproape 2% din repondenți au adus critici unor întrebări și formatului formularului. Drept urmare, s-au operat modificări, însă doar de formă, nu și de fond ale unor întrebări.

7.5. Discuții

Ancheta privind calitatea vieții pentru anul 2013-2014 s-a organizat ca o cercetare statistică selectivă, pe un eșantion de 1066 de indivizi, repartizate pe întreg teritoriul Moldovei. S-a folosit un plan de sondaj într-o treaptă. Pentru dimensionarea eșantionului s-a luat în considerare obținerea unor estimări ale principalelor caracteristici cercetate care să fie afectate de erori în limita a 3% și garantate cu o probabilitate de 97%.

Estimările corespunzătoare întregii populații s-au calculat prin extinderea rezultatelor anchetei pe baza coeficienților de extindere, atribuiți tuturor indivizilor din eșantion care au răspuns la anchetă.

7.6. Concluzii

Chestionarul elaborat, în baza validării obținute prin aplicarea formularului suplimentar la un procent de peste 15% din valoarea minimă a eșantionului populațional, este valid. Certificarea validității acestuia a fost concluzionată secundar obținerii de răspunsuri convenabile de la peste 90% din repondenți.

CAPITOLUL 8. APLICAREA CHESTIONARULUI PENTRU STUDIUL FARMACOEPIDEMIOLOGIC AL CONSUMULUI DE SA ÎN POPULAȚIA DIN ZONA GEOGRAFICĂ MOLDOVA, ROMÂNIA, ELABORAT ȘI VALIDAT ÎN CADRUL CAPITOLULUI ANTERIOR. ANALIZA DATELOR OBȚINUTE ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

8.1. Introducere

Varietatea SA este semnificativă. Puține studii au evaluat utilizarea SA în populație generală (Kołodziej et al., 2019; Tarn et al., 2015); majoritatea au evaluat utilizarea în grupuri speciale de populație: sportivi (Baltazar-Martins et al., 2019; Jawadi et al., 2017), pacienți cu o boală cronică specificată (Ben-Sasson et al., 2020; Karny-Rahkovich, 2015), sau studenți (Axon et al., 2017).

Cum administrarea SA se face adesea în baza recomandărilor nemedicale, cunoașterea percepțiilor ar antrena dezvoltarea, din partea personalului medical, a unor strategii de adecvare a consumului. În acest context, ne-am propus evaluarea utilizării SA la populația din Moldova.

8.2. Obiective

Obiectivul general a fost evaluarea nivelului de consum și al percepțiilor privind SA într-un grup de utilizatori de automedicație din populația generală adultă din România, regiunea Moldovei (opt județe) pentru a identifica factorii legați de această practică.

Următoarele **obiective specifice** au fost propuse pentru atingerea acestui obiectiv general:

O.S.1. Analiza particularităților demografice ale grupului luat în studiu;

O.S.2. Evaluarea nivelului de consum și a percepțiilor privind SA în populația generală adultă din Moldova (opt județe), pentru a identifica factorii legați de această practică;

O.S.3. Identificarea noțiunilor importante pentru creșterea nivelului de conștientizare privind utilizarea SA la diferite profiluri (medical și nemedical);

O.S.4. Evaluarea nivelului consumului de SA în populația generală adultă din România, regiunea Moldovei, cu particularizare pe profiluri de vârstă, sex, preocupare pentru efectuarea de exerciții fizice, proveniență din mediul rural sau urban, nivel de educație, stare de sănătate.

O.S.5. Evaluarea profilului consumului de SA la pacienții cu boli cronice, despre care se presupune că ar avea motivație superioară în a consuma DS;

O.S.6. Analiza în mod particular a datelor colectate strict pentru municipiul Iași.

8.3. Materiale și metode

A fost aplicat chestionarul validat, descris ca manieră de redactare și alcătuire în capitolul anterior.

8.4. Rezultate

Datele au fost colectate de o echipă de doctoranzi, instruiți să răspundă întrebărilor participantului cu privire la chestionar, în cazul în care este solicitat acest lucru. Reprezentarea selecției celor 1066 chestionare valide în baza cărora s-a făcut interpretarea răspunsurilor este ilustrată în Fig 8.1.

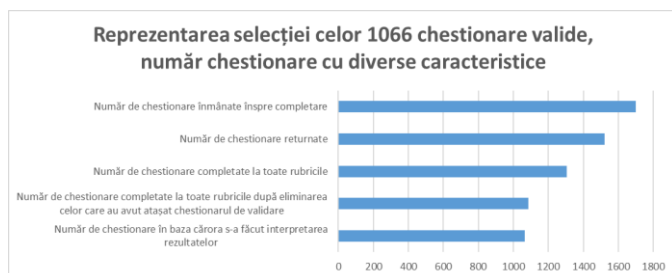


Fig. 8.I. Reprezentarea selecției celor 1066 chestionare valide

Percepția privind starea de sănătate și monitorizarea sănătății

Aproximativ 61,3% din populație declară o stare de sănătate bună sau foarte bună. Una din 5 persoane consideră starea de sănătate satisfăcătoare și una din 11 drept precară. Bărbații și cei din mediu rural dețin proporția covârșitoare a răspunsurilor optimiste. Majoritatea celor care au declarat că sănătatea lor este rea sau foarte rea o formează persoanele în vârstă.

Analiza în general a prevalenței consumului SA, intenției de consum și a tipului de recomandare care a încurajat administrarea de SA

Referitor la părerea asupra consumului de SA, s-a înregistrat un procent de aproape 60% răspunsuri neutre. Procentul celor care au răspuns pozitiv la întrebarea **“14. Ați utilizat SA?”** a fost de 76,92% (820 persoane).

Tabelul 8.XI. Distribuția în funcție de părerea asupra consumului de SA în general

Răspuns înregistrat	Număr de repondenți din 1066	Procent (%) din total	Procent (%) cumulat
mai curând bună	325	30,48	30,4
nici bună, nici proastă	620	58,16	88,64
mai curând proastă	121	11,35	100

Procentul de circa 77% răspunsuri pozitive nu este în concordanță cu răspunsurile de la întrebarea **“13. Ce parere aveți referitor la consumul de SA?”**.

Tabelul 8.XII. Distribuția în funcție de frecvența (durata) utilizării de SA

Frecvență consum	Număr de repondenți din 1066	Procent (%) din 820 utilizatori declarați	Procent (%) din total de 1066 repondenți
10 - 20 de zile pe lună	84	10,2439	7,879925
1 - 3 luni	256	31,21951	24,01501
3- 6 luni	41	5	3,846154
6 - 12 luni	58	7,073171	5,440901
peste 12 luni	47	5,731707	4,409006
ocazional	334	40,73171	31,33208

La întrebarea privind frecvența de utilizare a SA, aproximativ 48% din respondenții care declară că le consumă indică varianta “ocazional” pentru frecvența de consum. Trebuie ținut cont că ancheta s-a realizat în perioada rece a anului, când predispoziția la consum crește, întrucât sezonul rece e perceput ca fiind favorizant al infecțiilor respiratorii, iar necesitatea de stimulare a sistemului imun e percepută ca fiind superioară în acea perioadă a anului. Durata utilizării de SA este declarată ca fiind între de 10-20 zile lunar de către 7,9% din repondenți, iar frecvența de consum între una și trei luni e indicată de către 24% din repondenți (număr total). Datele sunt ilustrate în Tabelul 8.XII. și în Fig 8.IX.

Dintre cei ce au părere “nici bună, nici proastă” și “mai curând proastă” despre SA, au indicat o perioadă de probă în utilizare (răspuns “ocazional”) circa 41%. De asemenea, s-a constatat, în cazul celor ce declară utilizarea SA pe un interval de timp de 1-3 luni de zile, un procent de peste 32% a acestor tipuri de răspunsuri la respectiva întrebare. Așadar, percepția negativă referitoare la astfel de produse nu exclude faptul ca acestea să fi fost consumate.

Tabelul 8.XIII. Distribuția în funcție de percepția efectului SA asupra stării generale

	Număr de repondenți din 1066	Procent (%) din total	Procent (%) din 820 utilizatori declarați
mult mai bine	103	9,66	12,56
ceva mai bine	153	14,35	18,65
aproximativ la fel	69	6,47	8,41
ceva mai prost	53	4,97	6,46
mult mai prost	51	4,78	6,21
indecis	391	36,67	47,68

Percepția unor eventuale beneficii aduse de consumul de SA este de aproximativ 30% (procentul persoanelor care au declarat că se simt “mult mai bine”, respectiv “ceva mai bine” după consumul acestora). Datele sunt ilustrate în Tabelul 8.XIII. și în Fig 8.X.

Referitor la intenția de a consuma ulterior SA, peste 40% au răspuns “probabil da” (sensibil peste procentul celor care au declarat că se simt “mult mai bine” sau “ceva mai bine” după consumul SA). Au răspuns “nu știu” una din 8 persoane, iar procentul cumulat al celor care indică “sigur nu” sau “probabil nu” este de aproape 12%, mult sub al celor nu au utilizat SA în trecut.

Tabelul 8.XIV. Distribuția în funcție de intenția de a consuma ulterior SA

	Număr de repondenți din 1066	Procent (%) din total
sigur nu	77	7,2232645
probabil nu	49	4,5966229
nu știu	130	12,195122
probabil da	467	43,80863
sigur da	340	31,894934
indecis	3	0,2814259

Dintre cei ce au utilizat cel puțin odată SA, aproximativ 61% au exprimat dorința de a utiliza și în viitor. Dintre cei care au declarat că se simt “aproximativ la fel” după consumul de astfel de produse, 23% declară intenția de a mai consuma; chiar în rândul celor care au declarat că se simt “mai prost” și “mult mai prost” după consum, există un procentaj de 9,4% care declară intenție de consum ulterior.

Tabelul 8.XV. Distribuția în funcție de motivele care ar determina consumul ulterior de SA

	Număr de repondenți din 1066	Procent (%) din total
noile generații de SA	86	8,06
manifestare unor boli	327	30,67
recomandarea medicului	616	57,78
altele (cu specificația “precizați”)	37	3,47

Tabelul 8.XVI. Distribuția în funcție de situațiile în care administrarea de SA ar fi utilă

	Număr de repondenți din 1066	Procent (%) din total
boli cronice	178	16,69
imunizare organism	513	48,12
protecție organism	3	0,28
performanțe fizice	5	0,46
performanțe psihice	18	1,68
prevenție	1	0,09
altele (cu specificația precizați)	1	0,09

Dintre cei care au declarat părere neutră referitoare la SA, 76,3% declară intenția de

consum în viitor, iar procentul celor care declară o astfel de intenție dintre cei cu părere proastă referitoare la SA este de 17,3%. Datele sunt ilustrate în Tabelul 8.XIV. și în Fig 8.XI.

În ceea ce privește motivele care ar determina repondentul la consumul SA, 57% au avut în vedere recomandarea medicului, iar aproximativ 30% au răspuns cu “manifestarea unor boli”. Datele sunt ilustrate în Tabelul 8.XV.

La întrebarea “**18. Considerați necesară utilizarea SA ?**”, procentul celor care au dat răspuns pozitiv a fost 87,62%. Este interesant că răspunsurile cu “da” sunt sensibil mai numeroase față de cele înregistrate la întrebarea “**14. Ați utilizat SA?**”, fiind indicate inclusiv de 15 repondenți care au părere “mai curând proastă” referitoare la astfel de produse. La întrebarea suplimentară “**18. *) dacă Da, în ce caz?**”, posibilitatea stimulării sistemului imun a fost varianta de răspuns preferată de peste 48% din repondenți. Datele sunt ilustrate în Tabelul 8.XVI.

Tabelul 8.XVII. Distribuția în funcție de sursă care a recomandat administrarea vs. proprie inițiativă

	Număr de repondenți din 1066	Procent (%) din total	Procent (%) din 820 răspunsuri pozitive
din proprie inițiativă	223	20,91	27,19
sfatul prietenilor	43	4,03	5,24
mass media / publicitate	27	2,53	3,29
Medic	315	29,54	38,41
Farmacist	50	4,69	6,09
vânzători ambulanți	157	14,72	19,14
alte (cu specificația precizată)	5	0,46	0,61

Tabelul 8.XVIII. Distribuția în funcție de declarațiile privind consumul unui anumit tip de SA. Coloanele tabelului reprezintă:

1. număr de utilizatori ai tipului de produs;
2. număr de persoane care nu au utilizat tipul de produs, dar au utilizat alte tipuri de SA;
3. total repondenți care nu au utilizat tipul de produs;
4. procent (%) de utilizatori ai tipului de produs din totalul chestionare valide (1066);
5. procent (%) de utilizatori ai tipului de produs din totalul celor care au declarat că au folosit SA (820);
6. procent (%) de neutilizatori ai tipului de produs, dar care utilizează alte tipuri de SA, din totalul chestionare valide (1066);
7. procent (%) de neutilizatori ai tipului de produs, dar care utilizează alte tipuri de SA, din totalul celor care au declarat că au folosit suplimente (820);
8. procent (%) de neutilizatori ai tipului de produs, dar care utilizează alte tipuri de SA, din totalul celor care au declarat că nu au folosit un astfel de produs

Tipul de produs din categoria SA	1	2	3	4	5	6	7	8
săruri de calciu	686	134	380	64,35	83,66	12,57	16,34	35,26
vitamine și minerale	703	117	363	65,95	85,73	10,98	14,27	32,23
acizi grași	646	174	420	60,60	78,78	16,32	21,22	41,43
enzime	101	719	965	9,47	12,32	67,45	87,68	74,51
produse destinate scăderii ponderale	532	288	534	49,91	64,88	27,02	35,12	53,93
extracte botanice	676	144	390	63,41	82,44	13,51	17,56	36,92
stimulatori ai sistemului imun	610	210	456	57,22	74,39	19,70	25,61	46,05
stimulatori ai memoriei	763	57	303	71,58	93,05	5,35	6,95	18,81
produse pentru creșterea puterii de concentrare	196	624	870	18,39	23,90	58,54	76,10	71,72

În o mare parte a situațiilor (30% din cazuri) administrarea de SA s-a realizat la sugestia medicului, iar în 21% din proprie inițiativă. Sfatul prietenilor a fost considerat în 4% din cazuri, procent sensibil egal cu cel în care administrarea s-a făcut la sugestia farmaciștilor (4,7%). Datele sunt ilustrate în Tabelul 8.XVII.

Analiza prevalenței consumului SA în mod specific, pe categorii de produse

Datele privind declarațiile referitoare la consumul SA pe categorii de produse, înregistrate în cele 1066 de chestionare valide, sunt ilustrate în Tabelul 8.XVIII. și în Fig 8.XII.

Analiza consumului SA în contextul patologiei cronice

Rata de boli cronice este de circa 41,46% din respondenți (în special persoane trecute de 45 ani de ambele genuri). Dintre cele 442 de persoane ce s-au declarat ca suferinde de boli cronice, 51 au declarat existența a mai multor entități patologice de care se știu suferinde, astfel încât numărul total al diagnosticelor centralizate este 513. Cea mai mare frecvență o are boala cardiacă, cu un procent de 37,5% din totalul celor ce se declară suferinzi de boli cronice, urmată de diabet și boli de nutriție. O boală cu o răspândire relativ frecvent indicată este fibromul uterin (20 cazuri, 3,65% din femei, 6,25% din cele peste 45 de ani). Datele sunt ilustrate în Tabelul 8.XIX.

Tabelul 8.XIX. Distribuția respondenților în funcție de declarațiile privind patologia cronică declarată

	număr de persoane care s-au declarat suferinde de afecțiunea respectivă	procent (%) din total persoane chestionate	procent (%) din persoanele chestionate ce s-au dovedit suferinde de boli cronice	procent (%) din total patologie declarată (513 cazuri menționate)
diabet zaharat	128	12,0075	30,18868	24,95127
boală cardiacă	166	15,57223	39,15094	32,35867
hepatită cronică	25	2,345216	5,896226	4,873294
boală pulmonară	22	2,06379	5,188679	4,288499
dislipidemie	36	3,377111	8,490566	7,017544
accident vascular	5	0,469043	1,179245	0,974659
patologie tumorală malignă	3	0,281426	0,707547	0,584795
obezitate	84	7,879925	19,81132	16,37427
anxietate / depresie	13	1,219512	3,066038	2,534113
altele (cu specificația "precizați")	31	2,908068	7,311321	6,042885

S-a declarat urmarea unui tratament în 355 astfel de situații (69,2% din cazuri). Doar 311 persoane urmează terapie (70,36%). Datele sunt ilustrate în Tabelul 8.XX.

Întrebarea „**31. Ați luat SA destinate aceluiași scop cu tratamentul medicamentos?**” are răspunsurile sintetizate în Tabelul 8.XXI.

Întrebarea „**32. După asocierea SA cu tratamentul medicamentos, starea dumneavoastră de sănătate a fost?**” are răspunsurile sintetizate în Tabelul 8.XXII.

Întrebarea „**33. Dacă efectul asocierii suplimentului alimentar cu tratamentul a fost mai bun, acesta s-a datorat...**” are răspunsurile sintetizate în Tabelul 8.XXIII.

Întrebarea „**34. Considerați că medicul dumneavoastră ar trebui să asocieze SA cu tratamentul medicamentos?**” are răspunsurile sintetizate în Tabelul 8.XXIV.

Întrebarea „**35. Considerați că regimul igienico-dietetic indicat în cazul bolilor cronice poate fi înlocuit cu consumul unor SA?**” are răspunsurile sintetizate în Tabelul 8.XXV.

Întrebarea „**36. În ce scop ați consumat SA?**” are răspunsurile sintetizate în Tabelul 8.XXVI.

Tabelul 8.XX. Distribuția în funcție de declarațiile privind urmarea terapiei medicamentoase pentru patologia cronică declarată

	număr de persoane care au declarat că iau terapie medicamentoasă pentru afecțiunea respectivă	procent (%) din totalul celor declarați suferinzi care urmează terapie pentru afecțiunea respectivă	procent (%) din totalul celor declarați cu boli cronice care urmează terapie pentru afecțiunea respectivă	procent (%) din totalul celor chestionați care urmează terapie pentru afecțiunea respectivă
diabet zaharat	115	89,84	26,01	10,78
boală cardiacă	123	74,09	27,82	11,53
hepatită cronică	24	96	5,42	2,25
boală pulmonară	18	81,81	4,07	1,68
dislipidemie	30	83,33	6,78	2,81
accident vascular	4	80	0,90	0,37
patologie tumorală malignă	1	33,33	0,22	0,09
obezitate	20	23,80	4,52	1,87
anxietate / depresie	5	38,46	1,13	0,46
alte (cu specificația "precizați")	15	48,38	3,39	1,40

Tabelul 8.XXI. Distribuția în funcție de urmarea terapiei cu SA complementar celei medicamentoase pentru patologia cronică declarată

	număr de persoane care au declarat un răspuns	procent (%) din total repondenți	procent (%) dintre cei care se declară cu boli cronice	procent (%) dintre cei care se declară ca urmând terapie medicamentoasă pentru boli cronice
Da	131	12,28	29,63	42,12
Nu	152	14,25	34,38	48,87
nu știu	28	2,62	6,33	9,00

Tabelul 8.XXII. Distribuția în funcție de declarațiile privind eficiența terapiei cu SA complementar celei medicamentoase pentru patologia cronică declarată

	număr de persoane care au declarat un răspuns	procent (%) din total repondenți	procent (%) dintre cei care se declară cu boli cronice	procent (%) dintre cei care se declară ca urmând terapie medicamentoasă pentru boli cronice	procent (%) dintre cei care se declară ca urmând terapie cu SA complementar celei medicamentoase pentru boli cronice
mult mai bună	2	0,18	0,45	0,64	1,52
Bună	31	2,90	7,01	9,96	23,66
nici bună, nici rea	80	7,50	18,09	25,72	61,06
Rea	6	0,56	1,35	1,92	4,58
mult mai rea	5	0,46	1,13	1,60	3,81
nu știu	7	0,65	1,58	2,25	5,34

8.5. Discuții

Dacă, în urmă cu 20 de ani, piața SA era aproape nesemnificativă în România, astăzi populația arată flexibilitate în alegerea produselor bazate pe substanțe naturale active, în special categoriile sociale cu un nivel educațional înalt și acces facil la informație. Referitor la consumul de SA, sănătate și speranța de viață, acești indicatori s-au îmbunătățit de-a lungul

perioadei studiate, o creștere (14%) survenind la nivelul de utilizare a SA al grupei de vârstă 55-64 ani, care este totodată și vârsta susceptibilă pentru multe boli cronice și degenerative. Cele mai frecvente boli cronice întâlnite au fost: BCV, diabet zaharat, boli pulmonare. În cazul bolnavilor de boli cronice s-a înregistrat un consum ridicat (circa 80%) de SA, în special preparate cu calciu și pentru imunizare.

Am găsit corelații semnificative între nivelul educațional scăzut și indicatorii de sănătate, respectiv între acești parametri și consumul de SA, ceea ce reprezintă un argument științific pentru abordarea noastră holistică. Oarecum surprinzător, nu a existat o corelație între gradul de încredere (la nivel de percepție individuală) în eficiența produselor de tip SA și predispoziția la consum (23% dintre cei care apreciază că, după consumul de SA s-au simțit “aproximativ la fel” ca înainte, declară “sigur da” sau “probabil da” drept răspuns la întrebarea referitoare la probabilitatea ca în viitorul apropiat să consume SA; 45% dintre cei care au declarat că, secundar asocierii SA cu medicamentul standard în terapia unei afecțiuni cronice și-au ameliorat starea de sănătate – răspuns “mult mai bună” sau “mai bună” la întrebarea 33, pun această ameliorare pe seama terapiei principale, nu a SA, dar peste 90% din ei declară că vor consuma și în viitor SA; aproximativ 63% dintre cei, care au declarat că medicii ar trebui să recomande asociere de SA se încadrează în categoria celor care, după consumul de SA s-au simțit “aproximativ la fel” ca înainte).

Tabelul 8.XXIII. Distribuția în funcție de declarațiile privind sursa eficienței terapiei cu SA complementar celei medicamentoase pentru patologia cronică declarată

	număr de persoane care au declarat un anum răspuns	procent (%) din total repondenți	procent (%) dintre cei care se declară cu boli cronice	procent (%) dintre cei care se declară ca urmând terapie medicamentoasă pentru boli cronice	procent dintre cei care se declară ca urmând terapie cu SA complementar celei medicamentoase pentru boli cronice	procent (%) dintre cei care declară eficiența asocierii medicament clasic cu SA în terapia bolilor cronice
doar suplimentului alimentar	2	0,19	0,45	0,64	1,53	6,06
doar medicamentului	15	1,41	3,39	4,82	11,45	45,45
asocierii suplimentului cu medicamentul	4	0,38	0,90	1,29	3,05	12,12
nu știu	12	1,13	2,71	3,86	9,16	36,36

Tabelul 8.XXIV. Distribuția în funcție de declarațiile privind necesitatea ca medicul curant să asocieze SA cu tratamentul medicamentos

	număr de persoane	procent (%) din total repondenți
da	384	36,02
nu	123	11,54
nu știu	559	52,44

Tabelul 8.XXV. Distribuția în funcție de posibilitatea ca regimul igieno-dietetic indicat în cazul bolilor cronice să poată fi înlocuit cu consumul unor SA

	număr de persoane	procent (%) din total repondenți
da	129	12,10
nu	407	38,18
nu știu	530	49,72

Karbownik et al., 2019, apreciază (pentru Polonia) că există un contrast major între nivelul pretins de cunoaștere în ceea ce privește produsele destinate întreținerii stării de sănătate, în particular SA și nivelul redus de cunoaștere relevat de răspunsurile date la un

chestionar despre acestea, dar există o corelație directă între nivelul de promovare prin media a unor astfel de produse și cel al consumului.

Un studiu al altor cercetători din aceeași țară (Krawiek et al., 2019) apreciază, la populația de vârstă școlară, o prevalență de peste 50% a consumului în ultimele 6 luni, AG fiind printre cele mai populare produse și existând o predispoziție superioară de consum la copiii suferinzi de patologie alergică, dar nu de astm bronșic. Studiul a evidențiat că jumătate din cei chestionați consumă ocazional SA, iar dintre cei ce nu au momentat o părere despre SA vor utiliza doar în cazul manifestării unor boli sau la recomandarea medicului (circa 35%). Ponderea cea mai mare ca utilizare o au SA ce conțin calciu (aproximativ 80%) și cele pentru imunizare (aproximativ 60%). Cele mai mici procente s-au înregistrat SA speciale pentru slăbit (9%) și cele ce conțin enzime (7%).

Tabelul 8.XXVI. Distribuția în funcție de scopul consumului unor SA

	număr repondenți care au dat un anume răspuns	procent (%) din total 1066 de repondenți	procent (%) din totalul de 820 de repondenți care declară că au consumat în antecedente SA
digestie	84	7,87	10,24
întărirea imunității	243	22,79	29,63
suplimentare vitamine	156	14,63	19,02
pentru masamusculară	19	1,78	2,31
scădere greutate	48	4,50	5,85
profilaxia unor boli	270	25,32	32,92

Rezultate similare referitoare la ponderea consumatorilor de SA din populația generală (78%) au fost obținute de un grup de cercetători din Polonia (Wawryk-Gawda et al., 2018). Takashima et al., 2016 a realizat un studiu prospectiv privind atitudinea asupra SA utilizate concomitent cu dieta mediteraneană; majoritatea respondenților au considerat astfel de produse drept aditivi pentru efecte benefice superioare asupra sănătății.

Punctele forte ale studiului nostru au fost că chestionarele au exclus datele de identificare personală a respondenților și participarea voluntară a respondenților, ceea ce a redus tendința de a răspunde, dând răspunsuri „dezirabile social”.

Limitările studiului țin de imposibilitatea de se face o comparație adecvată cu date similare pentru alte zone. Este posibil ca persoanele care au fost mai informate să fi acceptat să participe în proporție mai ridicată față de cele cu nivel cultural inferior. În mod ideal, se are în vedere o strategie de îmbunătățire a cunoștințelor publice despre SA.

8.6. Concluzii

La nivelul regiunii Moldova, prevalența celor care declară că au consumat la un moment dat SA este de 76,92%. Consumul este mai pregnant în rândul femeilor, mai ales pentru preparatele cu săruri de calciu.

Se remarcă un consum mai mare în rândul celor cu afecțiuni cronice. Consumul este direct corelat cu venitul și gradul de școlarizare.

Părerea neutră sau nefavorabilă referitoare la SA nu exclude intenția de consum; intenția de consum e doar limitată, nu exclusă în rândul celor care declară lipsa beneficiilor sau chiar înrăutățirea stării de sănătate după consumul SA.

Sunt necesare mai multe studii suplimentare pentru a evalua utilizarea SA la populația generală.

CAPITOLUL 9. CONCLUZII GENERALE

Cercetările efectuate prin cele două studii desfășurate în cadrul prezentei teze de doctorat au condus la următoarele concluzii generale:

A. Concluzii ale studiului experimental

1. Cercetarea din cadrul tezei prezente **dovedește în mod clar efectul benefic al uleiului de pește împotriva creșterii ponderale excesive, a creșterii trigliceridelor serice, a creșterii colesterolului total seric și a creșterii LDL-colesterolului seric și scăderii colesterolului HDL seric, atât în condiții de dietă hipercolesterolică, cât și în condiții de standard sau mixtă**, la animale de laborator.

Acest efect este dependent de **doză și timp**.

2. Studiul histologic a relevat protecția contra **leziunilor de tip ateromatoză incipientă și modificărilor hepatosteatozice** induse de acizii grași ω -3. Grosimea aortică a scăzut ușor sau a rămas neschimbată la acele loturi care au primit acizii grași nesaturați n-3 (loturile n-3, HFD + n-3, CA1 și CA2). Dietele care nu au conținut acizii grași nesaturați n-3 (lotul HFD) au indus progresia modificărilor grase de la stadiul I la stadiul III la nivel hepatic. Modificările severe ale morfologiei hepatice pot reprezenta un factor limitativ pentru posibilul rol benefic al suplimentării cu acizii grași nesaturați n-3, în special la lotul CA2.

3. Este arătat aici efectul **benefic evident** al **uleiului de pește** asupra **ateromatozei incipiente și modificărilor de tip ficat gras** la șobolanilor cu alimentație **hipercolesterolică**.

4. S-a demonstrat că **acizii grași ω -3 induc o scădere mai pronunțată** a concentrației de **LDL-colesterol seric** față de reducerea colesterolului total la șobolani cu **dietă clasică**, dar la cei cu **dietă hiperlipidică**, efectul **de scădere** este **mai pronunțat** asupra **colesterolului total**, nu pe scăderea componentei LDL-colesterol.

5. Unele rezultate observate în cercetarea din teza curentă dovedesc **eficiența redusă** a **uleiului de pește** ca supliment alimentar în cazul **aportului ridicat de grăsimi** comparativ cu o dietă de tip standard:

a. La animalele dietă hipercolesterolică, protecția indusă de uleiul de pește, deși evidentă, este departe de a contracara consecințele negative ale dietei bogate în lipide.

b. La animalele cu suplimentare cu ulei de pește, pe dietă standard, creșterile masei corporale au fost mai mici față de martor între săptămânile 2 până la 6, dar la șobolanii pe dietă hipercolesterolică, protecția împotriva creșterii ponderale a fost limitată la săptămâni 3 – 5. Acizii grași ω -3, asociați ca supliment la o dietă clasică timp de 14 zile, dar după 28 de zile alimentație hipercolesterolică, protejează contra creșterii ponderale excesive, dar doar la doza de 50mg/kg/zi, nu și la cea de 25mg/kg/zi.

c. Trigliceridele serice a fost scăzute de acizii grași ω -3 după doar 14 zile de administrare, însă doar în condiții de dietă normală, nu și a celei bogate în grăsimi. Efectul acizilor grași ω -3 de scădere a trigliceridelor serice este mai puțin evident în condițiile dietei hipercolesterolică față de dieta normală la 42 de zile.

d. LDL-colesterolul seric a fost scăzut de acizii grași ω -3 după doar 14 zile de administrare, însă doar în condiții de dietă normală, nu și a celei bogate în grăsimi. Scăderea LDL-colesterolului seric indusă uleiul de pește este mai puțin evidentă în condiții de dietă hipercolesterolică față de dieta normală la 28 și 42 de zile.

e. Creșterea HDL-colesterolului seric a fost evidentă abia după 28 de zile de suplimentare cu ulei de pește la șobolani dietă hipercolesterolică, în timp ce la șobolanii dieta normală a putut fi observată după doar 14 zile.

6. Este necesar să se conceapă modele experimentale de alimentație combinată, cu aplicare pentru o perioadă mai lungă de timp, care să reproducă cât mai fidel obiceiurile de hrănire umană.

B. Concluzii ale aplicării chestionarului

7. La nivelul regiunii Moldova, prevalența celor care declară că au consumat la un moment dat suplimente alimentare este de peste trei sferturi din populație, cu un maxim în orașul Iași (aproape 82%).

8. Administrarea suplimentelor alimentare este mai răspândită în rândul femeilor, mai ales pentru preparatele cu săruri de calciu.

9. Administrarea suplimentelor alimentare este mai răspândită un consum mai mare în rândul celor cu afecțiuni cronice.

10. Administrarea suplimentelor alimentare crește în condițiile creșterilor de venit.

11. Administrarea suplimentelor alimentare crește în condițiile creșterilor gradului de școlarizare.

12. Percepția privind eficiența suplimentelor alimentare, ca terapie adjuvantă în bolile cronice, relevă o relativă lipsă de încredere în astfel de produse.

13. Relativa lipsă de eficiență la nivel de percepție în ceea ce privește suplimentele alimentare nu pare a fi un factor limitant al intenției de consum.

14. Sunt necesare mai multe studii suplimentare pentru a evalua utilizarea suplimentelor alimentare la populația generală.

CAPITOLUL 10. ELEMENTE DE ORIGINALITATE ALE TEZEI

Pornind de la faptul că problematica utilizării iraționale a suplimentelor alimentare are o un impact deosebit pentru societate, **teza prezintă următoarele elemente de originalitate:**

1. În cadrul tezei curente, în conformitate nivelul cunoașterii echipei de cercetare, s-a avut, pentru prima dată în vedere (conform celor relevate de consultarea bazelor de date ale literaturii de specialitate) *testarea efectelor acizilor grași polinesaturați de tip n-3 asupra profilului lipidic, morfologiei hepatice și aortice, și evoluției ponderale în condițiile unei diete mixte la animale de laborator*; au fost evaluate comparativ aceste efecte (la animalele cu dietă mixtă) față de condițiile unei diete hipercolesterolică sau standard. S-a plecat de la ideea că o dieta mixtă reproduce mai fidel tiparele de comportament alimentar la oameni, care nu sunt neapărat constrânși să adopte un anumit tipar alimentar pe perioade lungi.

- S-a relevat eficiența cu atât mai redusă a acizilor grași polinesaturați de tip n-3 în ameliorarea profilului lipidic seric, cu cât durata de aplicare a dietelor hiperlipidice este mai mare asupra organismului;
- S-a relevat posibilitatea de reversie parțială a modificărilor morfologice hepatice de tip ficat gras în condițiile revenirii la o dietă echilibrată după o perioadă de exces lipidic; reversia este potențată de suplimentarea dietei cu acizi grași de tip n-3;

2. **A fost elaborat un chestionar** corespunzător **validat** pentru aprecierea *percepțiilor și practicilor* privind **utilizarea de suplimente alimentare**. Chestionarul vizează în mod particular specificul utilizării suplimentelor alimentare în condițiile de prezență a unei afecțiuni cronice. Acesta care poate fi utilizat, în condițiile realizării unei eșantionări adecvate, în continuare, la diverse niveluri, sau în alte regiuni ale țării. Chestionarul este perfectibil.

- Programele de educație privind utilizarea rațională a medicamentelor și produselor complementare ar putea avea în vedere tipul de chestionar elaborat și rezultatele studiului curent.

3. Teza caracterizează, printr-un **studiu transversal**, cu o **metodologie riguros stabilită, nivelul consumului de suplimente alimentare** din populația generală, dintr-una din zonele sărace ale țării, identificând:

- **corespondența** între *predispoziția la consum* crescut și *nivelul mai ridicat al*

școlarizării;

- **corespondența** între *predispoziția la consum* crescut și *nivelul mai crescut al veniturilor*;
- **relativa lipsă de corespondență** între *nivelul perceput de eficiență* a suplimentelor alimentare și *predispoziție la consum* crescut;
- aplicarea chestionarului a urmărit evaluarea practicilor și percepției publice și a atitudinii privind suplimentele alimentare într-o **abordare mai puțin subiectivă**, *părtinitoare* față de **studiile** de piață efectuate de **companiile** care ar pune pe piață astfel de produse.

4. **Rezultatele obținute sunt importante pentru farmacovigilență** sub forma supravegherii utilizării unor produse cu nivel redus de reglementare, respectiv suplimentele alimentare.

CAPITOLUL 11. PERSPECTIVE DE CERCETARE

Din punct de vedere al rezultatelor obținute, se desprind câteva **direcții de cercetare**:

- cercetarea, pe modele experimentale, dar și în studii pe subiecți umani, a efectelor **acizilor grași polinesaturați de tip n-3 în condițiile dietelor mixte**, aplicate pe **perioade lungi**, sau în condițiile **alternării periodice a obiceiurilor alimentare**;
- realizarea de studii experimentale pentru cercetarea efectelor acizilor grași polinesaturați **în combinație cu uleiul de usturoi sau rodie** – cunoscute cu multiple efecte de îmbunătățire calitativă a fracțiilor lipidice;
- **probe biologice prelevate și conservate corespunzător** pot fi utilizate pentru determinări complementare, care ar putea aduce noi rezultate concludente, din diverse alte perspective; probele de organ sunt conservate corespunzător, putând folosi pentru *cercetări imunohistochimice* care ar crește sensibilitatea în evaluarea modificărilor de țesut în stadii incipiente de modelare aterosclerotică;
- **probe de ser** conservate la -20 °C ar putea servi pentru **determinări biochimice suplimentare**, de exemplu parametri ai *stresului oxidativ*, *glicemie*, alți parametri biochimici, între care și *markeri ai inflamației*;
- **analiza detaliată a rezultatelor din ultima parte a chestionarului** ar servi la *concluzii în privința asocierii* **suplimentelor alimentare** cu **medicamentele specifice unei afecțiuni cronice**, în scopul stabilirii unor limite ale combinării acestora;
- datele din **colecția de formulare completate pot fi prelucrate suplimentar**, pentru generarea de *concluzii*, care ar putea servi drept suport al unui **material informativ** sau **educativ**, adresat atât pacienților cât și pentru cei care practică medicina complementară, dar nu în ultimul rând și organelor responsabile de reglementarea suplimentelor alimentare;
- formularul de tip **chestionar** poate fi *îmbunătățit, updatat* în conformitate cu popularitatea actuală altor branduri de suplimente alimentare, și utilizat pentru cercetarea practicilor, percepțiilor și atitudinilor referitoare la suplimentele alimentare în alte regiuni ale României;
- **eșantionarea**, bazată pe datele de la ultimul recensământ (2011), este *utilă altor studii* realizate prin metoda chestionarului.

BIBLIOGRAFIE (selectiv)

Awada M, Meynier A, Soulage CO, et al. n-3 PUFA added to high-fat diets affect differently adiposity and inflammation when carried by phospholipids or triacylglycerols in mice. *NutrMetab (Lond)* 2013; 10(1): 1-14.

Axon DR, Vanova J, Edel C, Slack M. Dietary Supplement Use, Knowledge, and Perceptions Among Student Pharmacists. *Am J Pharm Educ.* 2017;81(5):92. doi:10.5688/ajpe81592

Baltazar-Martins G, Brito de Souza D, Aguilar-Navarro M, Muñoz-Guerra J, Plata MDM, Del Coso J. Prevalence and patterns of dietary supplement use in elite Spanish athletes. *J Int Soc Sports Nutr.* 2019;16(1):30. Published 2019 Jul 18. doi:10.1186/s12970-019-0296-5

Banu C, Preda N, Vasu S, Produsele alimentare și înocuitatealor. Ed. Tehnica, Bucuresti, 1982.

Ben-Sasson M, Levy I, Ben-Arye E, Attias S, Schiff E. Dietary and herbal supplements use among patients hospitalized in internal medicine departments. *Complement Ther Med.* 2020;50:102345.

Bjursell M, Xu X, Admyre T, et al. The beneficial effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on diet induced obesity and impaired glucose control do not require Gpr120. *PLoS One.* 2014; 9(12): 1-25.

Chacińska M, Zabielski P, Książek M, Szałaj P, Jarzabek K, Kojta I, Chabowski A, Błachnio-Zabielska AU. The impact of OMEGA-3 fatty acids supplementation on insulin resistance and content of adipocytokines and biologically active lipids in adipose tissue of high-fat diet fed rats. *Nutrients* 2019;11(4):835.

Curtin LR, Mohadjer LK, Dohrmann SM et al. The National Health and Nutrition Examination Survey: Sample Design, 1999-2006. *Vital Health Stat 2.* 2012 May;(155):1-39.

Directive 2002/46/EC of the European Parliament and of the Council of 10 June 2002 on the Approximation of the Laws of the Member States Relating to Food Supplements. *Official Journal L* 2002; 183: 51-57. <http://data.europa.eu/eli/dir/2002/46/oj/eng>. Accesat 2020.

Du S, Jin J, Fang W, Su Q. Does fish oil have an anti-obesity effect in overweight/obese adults? A meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS One* 2015;10(11):e0142652.

Dwyer JT, Coates PM, Smith MJ. Dietary Supplements: Regulatory Challenges and Research Resources. *Nutrients* 2018; 10(1): 1-24.

Fappi A, Godoy TS, Maximino JR, et al. The effects of omega-3 fatty acid supplementation on dexamethasone-induced muscle atrophy. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 1-14.

FDA: Food and Drug Administration website; <http://www.fda.gov/Drugs/default.htm>. 13, 2010. accesat 2015-2019;

Garban G, Florescu N. Ghid Privind Suplimentele Alimentare. Ministerul Sanatații, Institutul Național De Sanatate Publica, 2012.

Granado-Casas M, Alcubierre N, Martin M, et al. Improved adherence to Mediterranean Diet in adults with type 1 diabetes mellitus. *Eur J Nutr* 2019;58(6):2271-2279.

Grand View Research. <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/omega-3-market> Accessed 2020.

Health Canada. Policy Paper: Nutraceuticals/functional foods and health claims on foods. Therapeutic Products Programme and the Food Directorate from the Health Protection Branch; 1-29, 1998.

http://ec.europa.eu/dgs/health_food-safety/index_en.htm

<http://gulfstudy.ucsd.edu>.

<http://ods.od.nih.gov/>

<http://www.bolicronice-netransmisibile.ro/>

- <http://www.business-cover.ro/22-07-2011-suplimentelenutritive-segment-al-pietei-pharma-de-200-mil-euro-increstere/>. 2011.
- <http://www.business-cover.ro/22-07-2011-suplimentelenutritive-segment-al-pietei-pharma-de-200-mil-euro-increstere/>. 2011.
- <http://www.lef.org>
- <http://www.marketresearch.com>
- <http://www.medicinenet.com/script/main/art.asp?articlekey=33490>
- <https://pharmaboardroom.com/facts/romania-by-numbers/> (accesat la 26 iulie 2020)
- Jawadi AH, Addar AM, Alazzam AS, et al. Prevalence of Dietary Supplements Use among Gymnasium Users. *J Nutr Metab*. 2017;2017:9219361.
- Karbownik MS, Paul E, Nowicka M, et al. Knowledge about dietary supplements and trust in advertising them: Development and validation of the questionnaires and preliminary results of the association between the constructs. *PLoS One* 2019;14(6):e0218398.
- Karny-Rahkovich O, Blatt A, Elbaz-Greener GA, Ziv-Baran T, Golik A, Berkovitch M. Dietary supplement consumption among cardiac patients admitted to internal medicine and cardiac wards. *Cardiol J*. 2015;22(5):510-518
- Kołodziej G, Cyran-Grzebyk B, Majewska J, Kołodziej K. Knowledge Concerning Dietary Supplements among General Public. *Biomed Res Int*. 2019;2019:9629531
- Krawiec M, Chadzyńska J, Raciborski F, et al. Dietary supplements: a great menace of our time or golden remedy? A cross-sectional study among school-aged children. *Postepy Dermatol Alergol*. 2019;36(6):681-686
- Kumar SA, Sudhakar V, Varalakshmi P. Protective role of eicosapentaenoate-lipoate (EPA-LA) derivative in combating oxidative hepatocellular injury in hypercholesterolemia atherogenesis. *Atherosclerosis* 2006;189(1):115-122.
- Lin MH, Lu SC, Huang PC, et al. A high-cholesterol, n-3 polyunsaturated fatty acid diet causes different responses in rats and hamsters. *Ann Nutr Metab* 2005;49(6):386-391.
- Lu SC, Lin MH, Huang PC. A high cholesterol, (n-3) polyunsaturated fatty acid diet induces hypercholesterolemia more than a high cholesterol (n-6) polyunsaturated fatty acid diet in hamsters. *J Nutr* 1996;126(7):1759-1765.
- Marchisello S, Di Pino A, Scicali R, et al. Pathophysiological, Molecular and Therapeutic Issues of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: An Overview. *Int J Mol Sci*. 2019;20(8): 1-33.
- Marreiro DD, Cruz KJ, Morais JB, et al. Zinc and Oxidative Stress: Current Mechanisms. *Antioxidants (Basel)* 2017;6(2): 1-9.
- Marsh SA, Coombes JS. Vitamin E and alpha-lipoic acid supplementation increase bleeding tendency via an intrinsic coagulation pathway. *Clin Appl Thromb Hemost* 2006; 12 (2): 169-173.
- Martyn JA, Kaneki M, Yasuhara S. Obesity-induced insulin resistance and hyperglycemia: etiologic factors and molecular mechanisms. *Anesthesiology* 2008;109(1):137-148.
- Mentang F, Maita M, Ushio H, Ohshima T. Efficacy of silkworm (*Bombyx mori* L.) chrysalis oil as a lipid source in adult Wistar rats. *Food Chem* 2011;127(3):899-904.
- Mircioiu C, Sandulovici R. Aplicații numerice de biostatistică și statistică în farmacie, volum I. Metode manuale, ediția a II-a revizuită, Editura Universitară Carol Davila, București, 2010
- Naik HS, Srilatha C, Sujatha K, et al. Supplementation of whole grain flaxseeds (*Linum usitatissimum*) along with high cholesterol diet and its effect on hyperlipidemia and initiated atherosclerosis in Wistar albino male rats. *Vet World* 2018;11(10):1433-1439.
- Nogueira MS, Kessuane MC, Lobo Ladd AA, et al. Effect of long-term ingestion of weakly oxidised flaxseed oil on biomarkers of oxidative stress in LDL-receptor knockout mice. *Br. J. Nutr*. 2016;116(2):258-269.

O'Brien SK, Malacova E, Sherriff JL, Black LJ. The Prevalence and Predictors of Dietary Supplement Use in the Australian Population. *Nutrients* 2017;9(10): 1-9.

Parker HM, Parker HM, Cohn JS, et al. Effect of Fish Oil Supplementation on Hepatic and Visceral Fat in Overweight Men: A Randomized Controlled Trial. *Nutrients* 2019;11(2): 1-15.

PRWeb. Releases. Available at: http://www.prweb.com/releases/herbal_supplements/herbal_remedies/prweb9260421.htm. Acces 2018

Scorletti E, Bhatia L, McCormick KG, et al. Effects of purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in nonalcoholic fatty liver disease: results from the Welcome* study. *Hepatology* 2014;60(4):1211-1121.

Sokola-Wysoczanska E, Wysoczanski T, Wagner J, et al. Polyunsaturated fatty acids and their potential therapeutic role in cardiovascular system disorders-a review. *Nutrients* 2018;10(10): 1-21.

Sunderic M, Robajac D, Gligorijevic N, et al. Is there something fishy about fish oil? *Curr Pharm Des* 2019;25(15):1747-1759.

Surette ME, Whelan J, Lu GP, et al. Dependence on dietary cholesterol for n-3 polyunsaturated fatty acid-induced changes in plasma cholesterol in the Syrian hamster. *J Lipid Res* 1992;33:263-271.

Svensson V, Johansson E, Fischer M, et al. Omega-3 fatty acids does not affect physical activity and body weight in primary school children - a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Sci Rep* 2018;8(1): 1-6.

Takashima A, Fukuda D, Tanaka K, et al. Combination of n-3 polyunsaturated fatty acids reduces atherogenesis in apolipoprotein E-deficient mice by inhibiting macrophage activation. *Atherosclerosis* 2016; 254:142-150.

Taouis M, Dagou C, Ster C, et al. N-3 polyunsaturated fatty acids prevent the defect of insulin receptor signaling in muscle. *Am J PhysiolEndocrinolMetab* 2002;282(3):E664-671.

Thorsdottir I, Tomasson H, Gunnarsdottir I et al. Randomized trial of weight-loss-diets for young adults varying in fish and fish oil content. *Int J Obes (Lond)*. 2007;31(10):1560-1566.

Torres N, Guevara-Cruz M, Velazquez-Villegas LA, Tovar AR. Nutrition and atherosclerosis. *Arch. Med. Res.* 2015;46(5):408-426.

U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Department of Agriculture. 2015-2020 Dietary Guidelines for Americans. 8th Edition December 2015. Available at <http://health.gov/dietaryguidelines>.

Virgili F, Marino M. Regulation of cellular signals from nutritional molecules: A specific role for phytochemicals, beyond antioxidant activity. *Free RadicBiol Med* 2008; 45: 1205-1216.

Wan J, Hu S, Jacoby JJ, Liu J, et al. The impact of dietary sn-2 palmitic triacylglycerols in combination with docosahexaenoic acid or arachidonic acid on lipid metabolism and host faecal microbiota composition in Sprague Dawley rats. *Food Funct* 2017;8(5):1793-802.

Wang T, Heianza Y, Sun D, et al. Improving adherence to healthy dietary patterns, genetic risk, and long term weight gain: gene-diet interaction analysis in two prospective cohort studies. *BMJ* 2018;360: 1-9.

WHO. Fact sheet no. 134: Traditional Medicine; 2008.

WHO: World Health Organization Obesity: preventing and managing the global epidemic. http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/ 2000; accesat 2019.

Yang G, Lee J, Lee S. Krill oil supplementation improves dyslipidemia and lowers body weight in mice fed a high-fat diet through activation of AMP-activated protein kinase. *J Med Food* 2016;19(12):1120-1129.

Yang J, Fernandez-Galilea M, Martinez-Fernandez L, et al. Oxidative Stress and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Effects of Omega-3 Fatty Acid Supplementation. *Nutrients* 2019; 11(4): 1-37.