

Universitatea “Lucian Blaga” din Sibiu

TEZĂ DE DOCTORAT

(Rezumat)

**Markerii serici
imunologici și obezitatea,
corelații cu alimentația
sugarului**

Conducător științific:

Prof. Univ. Dr. Mihai-Leonida Neamțu

Doctorand:

Malvina-Maria Grigorie

2018

CUPRINS

Cuvânt înainte	6
Lista de abrevieri	9
PARTEA GENERALĂ	12
Capitolul 1. Laptele uman	13
1.1. Laptele uman – compoziție	15
1.2. Laptele uman – biostructură	16
1.3. Date statistice privind superioritatea imunologică a laptelui uman	22
1.4. Interrelația dintre factorii imuni din laptele uman	24
1.5. Rolul alimentației cu lapte uman în patologia pediatrică	28
1.6. Variațiile inter- și intra-individuale ale laptelui uman, factori determinanți	30
Capitolul 2. Markerii imunologici inflamatori în relație cu laptele uman	33
2.1. Interleukina	33
2.2. Leptina	35
2.3. Alți markeri inflamatori corelabili cu laptele uman	36
2.3.1. Adiponectina	36
2.3.2. Interleukina 8	36
2.3.3. Chemerina	36
Capitolul 3. Obezitatea. Inflamația de grad redus	37
3.1. Obezitatea în Pediatrie	37
3.2. Markerii inflamatori și Obezitatea	39
3.2.1. Obezitatea și interleukina-6	39
3.2.2. Obezitatea și leptina	40
3.2.3. Mecanismele patogenice implicate în obezitatea consecutivă inflamației	40
3.2.4. Factorii care influențează obezitatea – obezitatea maternă din timpul sarcinii	47
3.2.5. Factorii care influențează obezitatea – factorii genetici	48
3.2.6. Complicațiile cardio-vasculare ale obezității	48
PARTEA SPECIALĂ	50
Capitolul 4. Premise. Markerii imunologici și obezitatea, corelații cu	

alimentația sugarului	51
4.1. Generalități	51
4.2. Obezitatea la sugar și copilul mic – date epidemiologice	52
4.3. Profilul imunologic al laptelui uman	54
4.4. Interrelația “Inflamația de grad redus/inflamația sublinică/meta- inflamația și Obezitatea”	58
4.5. Utilizarea interleukinei-6, a leptinei și a proteinei C reactivă în studii clinice	63
Capitolul 5. Ipoteza de lucru și obiectivele cercetării	68
5.1. Motivația cercetării	68
5.2. Obiectivele cercetării	69
5.3. Material și metodă	70
5.3.1. Material	70
5.3.2.a. Criterii de includere	70
5.3.2.b. Criterii de excludere pentru lotul de studiu	71
5.3.2.c. Criterii de excludere pentru lotul martor	71
5.3.3. Metoda de evaluare	71
5.3.4. Metoda de determinare	72
5.3.5. Metodele statistice	76
Capitolul 6. Rezultate	78
6.1. Descrierea generală a studiului	78
6.2. Rezultatele parametrilor demografici în loturile de studiu	79
6.3. Rezultatele parametrilor anamnestici în loturile de studiu	87
6.4. Rezultatele parametrilor clinici și biologici în loturile de studiu	94
6.5. Analiza comparativă a parametrilor biologici în funcție de antecedentele familiale și personale patologice în loturile de studiu ...	99
6.6. Analiza comparativă a parametrilor clinici și biologici în loturile de studiu	106
6.7. Corelații statistice între parametri clinici și biologici din întregul lot de studiu, din lotul de studiu și din lotul martor	116
6.8. Arborele de clasificare a tipului de alimentație, a parametrilor clinici (greutate) și a parametrilor biologici (leptina, interleukina-6 și proteina C reactivă ultrasenzitivă)	140

Capitolul 7. Discuții	142
Capitolul 8. Concluzii	154
Capitolul 9. Contribuții personale. Limite ale studiului. Recomandări	157
Capitolul 10. Bibliografie	159
Anexe	

Cuvinte cheie: laptele uman, obezitate, markeri inflamatori imunologici

INTRODUCERE

Teza se bazează pe două consensuri fundamentale și universal acceptate în lumea medicală:

- obezitatea este un flagel al societății, în continuă creștere;
- alimentația cu lapte uman reduce riscul obezității.

Obezitatea la copil a devenit o problemă majoră de sănătate publică – peste 40 milioane de copii de vârstă școlară sunt obezi, observația fiind cu atât mai gravă cu cât această creștere este însoțită de cea a diabetului zaharat de tip 2, deopotrivă [1].

Specialiștii de la Centrul de Control al Bolilor (CDC) și Centrul de Supraveghere a Stării de Sănătate și Nutriție (NHANES) atrăgeau atenția asupra creșterii prevalenței obezității la categoria de vârstă 6-23 luni, tendință înregistrată în ultimii 30 ani [2].

Recent, Roy și colab. au publicat în 2016 rezultatele unui studiu în care concludeau că excesul ponderal din a doua lună de viață poate fi considerat factor de risc pentru obezitatea în perioada antepreșcolară sau chiar adolescență [3].

Deși există puține studii clinice axate pe efectele inflamatorii ale vitei crescute în greutate la sugar, toate se axează pe o constatare comună: creșterea rapidă postnatală în greutate în primele 6 - 12 luni de viață reprezintă un factor de risc puternic pentru boala metabolică independentă de greutatea la naștere [4].

Per ansamblu, perioada postnatală imediată este în mod clar o fereastră sensibilă pentru modelarea răspunsurilor nutriționale și inflamatorii (inclusiv, meta-inflamația sau inflamația indusă de obezitate), dar, în prezent, există puține orientări privind modul de gestionare a creșterii rapide a sugarilor [5].

Încă din anul 1999, von Kries [6] promova rolul laptelui uman în prevenirea obezității, prin publicarea unor rezultate conform cărora riscul (prevalența la 5 ani) de supraponderare sau obezitate scade proportional cu durata alaptării.

Deși nu există o compoziție imunologică tipizată a laptelui uman provenit de la mamele sănătoase (dimpotrivă, există variații substanțiale inter- și intraindividuale), cercetările în domeniu au sugerat existența unei compoziții „bazale” comune imunologice prezentă în laptele uman matur, compoziție pe care toate femeile, independent de originea lor, o pot reproduce. Iar aceste „variații” fiziologice în profilul imunologic al laptelui uman reflectă tocmai modelele individuale în sistemul imunitar al copilului.

Modalitatea prin care alimentația cu lapte uman „per se” previne obezitatea este corect evaluată de întreaga compoziție imunologică a laptelui uman.

Teza cuprinde 180 pagini: 49 pagini destinate părții generale, 108 pagini destinate părții speciale și 21 pagini bibliografie. Conține 51 tabele, 11 figuri și 25 grafice. Sunt consemnate 251 titluri bibliografice, peste 40 % aparținând ultimilor 5 ani și peste 15 % ultimilor 3 ani.

PARTEA GENERALĂ – SINTEZE BIBLIOGRAFICE

Prima parte a lucrării este alcătuită din trei capitole mari în care sunt abordate noțiuni teoretice referitoare la obezitatea la copil și alimentația cu lapte uman.

Capitolul 1 este destinat laptelui uman căruia i se descrie compoziția/biostructura ce îi conferă superioritate imunologică. Factorii bioactivi majori din laptele uman și interrelațiile dintre aceștia ocupă următorul subcapitol. Este documentat rolul alimentației cu lapte uman în patologia pediatrică, respectiv rolul protectiv, antiinfecțios/antiinflamator și rolul energetic, de prevenire a supraponderiei/obezității. Pornind de la “unicitatea” sa, sunt descriși factorii determinanți ai variațiilor inter- și intraindividuale ale laptelui uman.

În **capitolul 2**, intitulat “Markerii imunologici inflamatori în relație cu laptele uman”, sunt descriși pe larg cei mai importanți markeri: interleukina-6 (IL-6) și leptina. Sunt amintiți și adiponectina, interleukina-8 și chemerina. Inițial, *IL-6* a fost considerată unul din cei mai importanți markeri ai sepsisului (neonatal) și a fost utilizată pe scară largă în acest sens. Mai multe studii au relevat o asociere pozitivă între obezitate și nivelurile de IL-6, precum și o asociere pozitivă între IL-6 și rezistența la insulină și diabetul zaharat de tip 2. Din păcate, studiile efectuate într-o populație sănătoasă privind asocierea dintre nivelurile IL-6 din laptele uman și creșterea sugarilor sunt limitate [7, 8]. Datorită funcției sale duale, ca hormon și citokină, *leptina* leagă sistemul neuroendocrin de sistemul imunitar. Rolul leptinei în modularea răspunsului imun și a inflamației a devenit recent din ce în ce mai evident. Creșterea producției de leptină care apare în timpul infecției și inflamației sugerează că leptina este o parte a rețelei de citokine care guvernează răspunsul inflamator-imun și mecanismele de apărare ale gazdei [9-13].

Capitolul 3 abordează obezitatea și inflamația de grad redus. Prevalența la nivel mondial a obezitității la copil a crescut foarte mult în ultimile 3 decenii [14-16]. Această observație este cu atât mai gravă cu cât s-a constatat și creșterea deopotrivă a diabetului de tip 2 la copil [17, 18]. Unele studii au demonstrat că nivelurile serice de IL-6 prezintă o corelație pozitivă cu obezitatea și intoleranța la glucoză, similar în populația adultă și cea pediatrică

[19-21]. Deși aceste studii nu fac referire la aspectul fiziopatologic al rezultatelor, asocierea IL-6 circulant cu markerii antropometrici și metabolici legați de rezistența la insulină indică participarea acestei citokine la rezistența la insulină încă din copilărie și continuă în toată perioada de adult. Marea parte a literaturii de specialitate aduce dovezi clare că leptina din laptele uman este corelată pozitiv cu indicele de masă corporală (IMC) matern. Dintre toți compușii bioactivi identificați în prezent în laptele matern, leptina furnizează cea mai clară indicație că IMC matern este asociat pozitiv cu concentrațiile leptinei din laptele uman. Studiul relației dintre concentrația leptinei din laptele uman și IMC matern la 6 săptămâni, 4, 12 și 24 de luni, a evidențiat corelația inversă între cei 2 parametri doar la vârsta de 4 luni [22, 23].

Două subcapitole sunt destinate altor factori care influențează obezitatea la copil: obezitatea maternă în timpul sarcinii și factorii genetici. În final, sunt enumerate complicațiile cardio-vasculare ale obezității.

PARTEA SPECIALĂ. *Premisele* temei de cercetare sunt axate pe două consensuri fundamentale și universale acceptate în lumea medicală:

- obezitatea este un flagel al societății, în continuă creștere;
- alimentația cu lapte uman reduce riscul obezității.

Motivația tezei pornește de la necesitatea evaluării statusului inflamator la sugarii supraponderali și obezi. Atâta timp cât între obezitate și alimentația cu lapte uman există o strânsă legătură, atunci aceasta necesită o reconsiderare permanentă.

Obiectivele principale sunt:

- 1. identificarea unor markeri inflamatori posibil corelați cu obezitatea la copiii cu vârsta 2-23 luni,**
- 2. profilul markerilor inflamatori în funcție de alimentație, la copiii cu vârsta 2-23 luni, alimentați cu lapte uman (alăptați) sau cu alt tip de lapte decât cel uman (nealăptați).**

În urma evaluării imunologice, cercetarea de față își propune și conturarea unui profil imunologic al copilului cu vârsta cuprinsă între 2-23 luni, obez și supraponderal, alimentat cu lapte uman sau alt tip de lapte decât cel uman.

Obiectivele secundare sunt orientate în evidențierea:

1. influenței unor factori demografici (vârsta, apartenența la sex, mediul de proveniență, paritatea, condiții socio-economice) asupra tipului de alimentație și impactul acestora asupra statusului nutrițional;

2. influenței greutății materne din perioada pregestațională, gestațională și postnatală imediată asupra statusului nutrițional al copilului;
3. efectelor duratei alimentației cu lapte uman și a momentului diversificării asupra statusului nutrițional;
4. efectelor antibioticoterapiei administrată în perioada de sugar asupra statusului nutrițional;
5. influenței tipului de alimentație și a statusului nutrițional asupra unor parametrii bioumorali (hemoglobina, glicemia).

Cercetarea se bazează pe un studiu prospectiv care cuprinde un lot de studiu – copii cu vârsta cuprinsă între 2-23 luni, alăptați, și un lot martor, copii cu vârsta cuprinsă între 2-23 luni, nealăptați, admiși în clinică, prin spitalizare continuă sau spitalizare de o zi, pentru o afecțiune care nu interferează cu patologia acută infecțioasă. Studiul a fost efectuat în perioada ianuarie 2016-decembrie 2017.

Au fost incluși în studiu un număr de 84 subiecți. Lotul de studiu a cuprins 45 subiecți (alăptați), iar lotul martor a cuprins 39 subiecți (nealăptați). Vârsta subiecților incluși în studiu a variat între 2 luni și 23 luni.

Criteriile de includere în studiu au fost:

- vârsta 2 – 23 luni,
- alimentație cu lapte uman sau alt tip de lapte decât cel uman,
- diversificare corectă,
- absența unui episod infecțios în momentul evaluării,
- absența terapiei cu antibiotice în ultimile 7 zile, atât pentru copil, cât și pentru mamă;
- absența unei boli cronice la copil și mamă,
- absența unor boli endocrine, inclusiv obezitate de altă cauză decât cea nutrițională, la mamă și ceilalți membri din familie,
- absența unei indicații de medicație cu administrare cronică la copil și/sau la mamă.

Criteriile de excludere au fost:

- vârsta < 1 lună sau > 23 luni,
- episod infecțios în momentul evaluării,
- antibioticoterapie administrată copilului sau mamei 7 zile anterior admiterii în studiu,
- boli cronice, inclusiv endocrine, cu excepția obezității nutriționale,
- medicație cronică administrată copilului și/sau mamei,
- ser hemolizat sau hiperbilirubinemic, care poate să interfereze cu rezultatele parametrilor de laborator investigați.

În **lotul de studiu** au fost incluși toți subiecții cu vârsta cuprinsă între 2-23 luni, alimentați cu lapte uman (alăptați) de la naștere până la momentul includerii în studiu, nediversificați sau diversificați (complet sau incomplet) în funcție de vârsta includerii în studiu.

În **lotul martor** au fost incluși toți subiecții cu vârsta cuprinsă între 2-23 luni, alimentați cu alt lapte decât cel uman, adaptat vârstei (excepție, formulă delactozată, hipoalergică, hidrolizate proteice, etc) încă de la naștere, nediversificați sau diversificați (complet sau incomplet) în funcție de vârsta includerii în studiu.

Metoda de evaluare a constat în evaluări anamnestice, clinice și biologice.

Măsurarea greutății s-a efectuat cu ajutorul cântarului electronic, calibrat pentru fiecare determinare. Pentru determinarea percentilelor pentru greutate s-au folosit diagramele de creștere, pentru copilul 0-36 luni, băieți și fete, ale Centrului de Control și Prevenție al Bolilor, 2000 [24].

Pentru dozarea nivelurilor proteinei C reactivă și proteina C reactivă ultrasenzitivă (**hs-PCR**) s-a folosit metoda imunoturbidimetrică, cu valori expectate normale ale **hs-PCR sub 0,5 mg/dL** [25].

Metoda utilizată pentru determinarea **leptinei** a fost una imunenzimatică, utilizând tehnica EIA. Pentru copilul cu vârsta mai mică de 24 luni (vârsta la care Centrul de Control și Prevenție al Bolilor nu recomandă utilizarea IMC ca valoare de raportare), valorile de referință se raportează la grupele de vârstă. Cu toate acestea, valorile de referință sunt relative deoarece sunt influențate de metoda de lucru specificată de laborator [25].

Metoda utilizată pentru determinarea **interleukinei-6** a fost imunochimică cu detecție prin electrochemiluminiscență (ECLIA), cu valoarea de referință sub 7 pg/mL [25].

Metodele statistice utilizate au fost: medie, deviație standard (DS), mediana, testul Chi-Square, coeficientul de corelație Spearman, Student T test sau testul Mann-Whitney, Kolmogorov-Smirnov, arbori decizionali [26].

Rezultatele și discuțiile au urmat cursul metodologiei folosite în cercetare, plecând de la comentarea rezultatelor parametrilor utilizați, la analiza comparativă a parametrilor și, în final, la corelațiile posibile între aceștia.

Întreg lotul din studiu a fost împărțit, în funcție de tipul alimentației, în:

- **lotul de studiu**, format din **45 subiecți**, cu vârsta cuprinsă între 2-23 luni, alimentați **cu lapte uman** de la naștere și până la momentul includerii în studiu, nediversificați

(subiecții cu vârste între 2-6 luni), diversificați incomplet (subiecții cu vârste între 7-12 luni), diversificați complet (subiecții cu vârste între 13-23 luni);

- **lotul martor**, format din **39 subiecți**, cu vârsta cuprinsă între 2-23 luni, alimentați cu **alt tip de lapte decât cel uman** de la naștere și până la momentul includerii în studiu, nediversificați (subiecții cu vârste între 2-6 luni), diversificați incomplet (subiecții cu vârste între 7-12 luni), diversificați complet (subiecții cu vârste între 13-23 luni).

Repartiția pe grupe de vârstă nu a fost echilibrată, omogenă, numărul de cazuri 2-12 luni din lotul martor fiind semnificativ mai mic statistic ($p = 0,004$). În schimb, împărțirea pe **genuri** (apartenența la sex) a întregului lot a fost **echilibrată** (1:1), dar subiecții de sex masculin care au fost alimentați cu alt lapte decât cel uman au fost semnificativ mai mulți decât subiecții de sex feminin care au fost alimentați cu lapte uman.

Alimentația cu alt lapte decât cel uman a fost mai frecventă în **mediul de proveniență** urban.

Condițiile socio-economice au contribuit la formularea unor concluzii preliminare conform cărora majoritatea subiecților care provin din familii cu condiții socio-economice bune sau foarte bune au primit alimentație cu lapte uman, față de cei cu condiții medii sau precare.

Paritatea (rangul subiecților în cadrul familiei) nu a adus rezultate semnificative statistic ($\text{Chi-Square} = 7.878$, $p = 0.096$).

Obezitatea maternă a oferit rezultate extrem de semnificative statistic ($\text{OR} = 6.400$, $95\% \text{CI}: 2.415-16.959$, $p = 0.000$), în sensul în care majoritatea subiecților proveniți din mame obeze au fost alimentați cu alt tip de lapte decât cel uman, la fel cum majoritatea subiecților care provin din mame neobeze au fost alimentați cu lapte uman.

În legătură cu **antecedentele personale patologice (frecvența episoadelor infecțioase)** este dovedit, încă o dată, rolul antiinfecțios al laptelui uman; majoritatea subiecților alimentați cu alt tip de lapte decât cel uman au prezentat istoric personal de patologie infecțioasă, în comparație cu subiecții alimentați cu lapte uman, diferența fiind extrem de semnificativă statistic ($\text{OR} = 3.667$, $95\% \text{CI}: 1.277-10.527$, $p = 0.013$).

Antibioterapia administrată în mai multe cure a fost semnificativ mai frecventă în lotul martor (al subiecților alimentați cu alt tip de lapte decât cel uman) ($\text{Chi-Square} = 14.920$, $p = 0.005$) [27].

La o primă citire a rezultatelor studiului în legătură cu dozările biologice, la nivelul întregului lot de studiu se constată că doar media valorilor IL-6 a fost superioară limitei

superioare a normalului; media valorilor leptinei a coincis cu limita superioară a normalului, iar media valorilor hs-PCR a fost cu puțin sub limita inferioară a normalului. Mediana valorilor s-a situat sub limita superioară a normalului pentru cei trei parametri.

Analiza comparativă a parametrilor utilizați în cercetare

S-a constatat că asocierea valorilor **leptinei** cu prezența **obezității materne** are semnificație statistică, în sensul în care subiecții care provin din mame obeze și sunt alimentați cu alt tip de lapte decât cel uman prezintă valori semnificativ mai mari de leptină ($p = 0,029$).

Valorile **leptinei** nu s-au asociat semnificativ cu existența *episoadelor infecțioase* din antecedentele personale patologice, nici ale subiecților din lotul de studiu și nici din lotul martor ($p=0,07$, respectiv $0,501$).

S-a constatat că asocierea valorilor **IL-6** cu prezența *obezității materne* nu prezintă semnificație statistică ($p = 0,592$), deși valorile IL-6 ale subiecților din lotul martor sunt semnificativ mai mari decât cele ale subiecților din lotul de studiu ($p = 0,024$).

Valorile **IL-6** s-au asociat extrem de semnificativ cu existența *episoadelor infecțioase* din antecedentele personale patologice, dacă acestea survin în rândul subiecților alimentați cu alt tip de lapte decât cel uman ($p = 0,003$).

S-a constatat că valorile **hs-PCR** ale subiecților din lotul martor sunt extrem de semnificativ mai mari decât cele ale subiecților din lotul de studiu, dar fără relație cu proveniența din *mame obeze* ($p = 0,000$).

Valorile **hs-PCR** nu s-au asociat semnificativ cu existența *episoadelor infecțioase* din antecedentele personale patologice ale subiecților ($p = 0,837$).

Analiza comparativă a valorilor **greutății, leptinei, IL-6 și hs-PCR** în lotul de studiu și lotul martor a relevat următoarele:

- atât media, cât și mediana valorilor greutății din lotul martor au fost semnificativ superioare celor din lotul de studiu ($p = 0,001$);
- atât media, cât și mediana valorilor leptinei, IL-6 și hs-PCR din lotul martor au fost superioare celor din lotul de studiu, această tendință fiind una, indirect, expectată (valori crescute ale markerilor imunologici la subiecții alimentați cu alt tip de lapte decât cel uman); cu toate acestea, diferența de valori între loturi nu prezintă semnificație statistică ($p = 0,716$, pentru leptină; $p = 0,080$, pentru IL-6; $p = 0,138$, pentru hs-PCR);

- aceeași tendință este constatată și în cazul valorilor hemoglobinei și glicemiei; am analizat acești parametri pentru a demonstra rolul antianemic al laptelui uman, respectiv relația glicemiei cu sindromul metabolic asociat obezității ($p = 0,032$) [28], ca și obiective secundare.

Colerații statistice între parametri clinici și biologici din întregul lot de studiu, din lotul de studiu și lotul martor

Pentru a releva semnificații mai consistente ale parametrilor clinici au fost utilizate rezultatele **coeficienților de corelație** între parametri:

✓ la nivelul întregului lot de studiu,

- *vârsta* s-a corelat **puternic și pozitiv** cu *greutatea* ($p = 0,000$), **negativ și slab**, dar cu semnificație statistică ($p = 0,000$) cu *leptina*, **pozitiv și slab**, dar cu semnificație statistică ($p = 0,001$), cu *hs-PCR*;
- *greutatea* s-a corelat **negativ și slab**, dar cu semnificație statistică ($p = 0,009$) cu *leptina*, **negativ și moderat**, dar cu semnificație statistică ($p = 0,000$), cu *glicemia*;
- *leptina* s-a corelat **slab și negativ** cu *hs-PCR* ($p = 0,028$);
- *IL-6* s-a corelat **pozitiv și slab**, dar cu semnificație statistică ($p = 0,000$) cu *hs-PCR*; **negativ și slab**, dar cu semnificație statistică ($p = 0,000$) cu *hemoglobina*;

✓ la nivelul lotului de studiu,

- *greutatea* s-a corelat **negativ și moderat**, dar cu semnificație statistică ($p = 0,000$) cu *leptina*, **negativ și slab** cu **IL-6** ($p = 0,021$);
- *leptina* s-a corelat **pozitiv și moderat**, dar cu semnificație statistică ($p = 0,000$), cu *IL-6*;

✓ la nivelul lotului martor,

- *IL-6* s-a corelat **pozitiv și puternic** cu *hs-PCR* ($p = 0,000$).

Coeficienții de corelație nu au adus argumente pozitive în legătură cu corelarea markerilor inflamatori cu obezitatea în loturile studiului. De altfel, literatura de specialitate precizează că din punct de vedere statistic o variabilitate mare a valorilor parametrilor luați în studiu ar putea împiedica stabilirea unor corelații robuste.

Singurele corelații conforme cu cele expectate au fost:

- *IL-6* s-a corelat pozitiv cu *hs-PCR*, cea mai puternică relație fiind demonstrată în lotul martor;

- leptina s-a corelat pozitiv cu IL-6, în lotul de studiu.

Din acest motiv s-a trecut la o analiză statistică superioară, și anume alcătuirea arborelui de clasificare.

Arborele de clasificare a tipului de alimentație, a parametrilor clinici (greutatea) și a parametrilor biologici (leptina, IL-6 și hs-PCR) a permis, în final, configurarea profilului imunologic, arborele întrunind un grad foarte mare de acuratețe (92,9 %):

- ✓ al subiectului supraponderal/obez, realizând astfel obiectivul principal al tezei de doctorat
 - alimentat cu lapte uman
 - cu valori crescute ale leptinei și
 - valori normale ale hs-PCR,
 - alimentat cu alt tip de lapte decât cel uman
 - cu trei posibilități
 - valori crescute ale hs-PCR, sau
 - valori normale ale hs-PCR și crescute ale leptinei, sau
 - valori normale ale hs-PCR, valori normale ale leptinei și valori crescute ale IL-6; rezultatul este acceptabil, dacă facem referire la datele din literatura de specialitate conform cărora IL-6 este cel mai potent marker al inflamației de grad redus;
- ✓ al subiectului cu greutate normală, realizând astfel obiectivul principal al tezei de doctorat
 - alimentat cu lapte uman (alăptat)
 - valori normale ale leptinei; rezultatul este expectat, de vreme ce leptinei i se acordă două circumstanțe ale intervenției în reglarea greutății (de hormon și de citokină, implicată în inflamația de grad redus);
 - alimentat cu alt tip de lapte decât cel uman (nealăptat)
 - valori normale ale hs-PCR, leptina și IL-6.

CONCLUZII

1. Alimentația cu alt tip de lapte decât cel uman (lotul martor) a fost predominantă, cu semnificație statistică, la subiecții proveniți din mediul urban.
2. Repartiția pe medii de proveniență nu a fost omogenă, diferența fiind semnificativă statistic, predominând semnificativ statistic subiecții din mediul urban nealăptați și subiecții din mediul rural alăptați.
3. Alimentația cu lapte uman s-a asociat condițiilor socio-economice bune și foarte bune, pentru majoritatea subiecților.
4. Obezitatea maternă corelată cu alimentația sugarului a generat rezultate extrem de semnificative statistic: majoritatea subiecților nealăptați provin din mame cu obezitate, respectiv majoritatea subiecților alăptați provin din mame normoponderale.
5. Referitor la frecvența episoadelor infecțioase din antecedentele personale patologice și rolul antiinfecțios al laptelui uman, majoritatea subiecților alimentați cu alt tip de lapte decât cel uman au prezentat istoric personal de patologii infecțioase, diferența fiind extrem de semnificativă statistic.
6. Antibioterapia administrată în mai multe cure a fost semnificativ mai frecventă în lotul martor.
7. Media valorilor a fost pentru IL-6, superioară limitei superioare a normalului, pentru leptină, o valoare care a coincis cu limita superioară a normalului, pentru hs-PCR, o valoare cu puțin sub limita inferioară a normalului.
8. Atât media, cât și mediana valorilor leptinei, IL-6 și hs-PCR din lotul martor au fost superioare celor din lotul de studiu.
9. Mediana valorilor s-a situat sub limita superioară a normalului în lotul de studiu pentru leptină, IL-6 și hs-PCR.
10. Valorile leptinei s-au asociat semnificativ cu obezitatea maternă și nu s-au asociat semnificativ cu existența episoadelor infecțioase din antecedentele personale patologice.
11. În întregul lot de studiu leptina s-a corelat slab și negativ cu hs-PCR.
12. La nivelul lotului de studiu, leptina s-a corelat pozitiv și moderat, dar cu semnificație statistică, cu IL-6.
13. Valorile IL-6 s-au asociat cu prezența obezității materne, dar fără semnificație statistică și extrem de semnificativ cu existența episoadelor infecțioase din antecedentele personale patologice.

14. IL-6 s-a corelat negativ și slab, dar cu semnificație statistică cu hemoglobina, pentru întregul lot de studiu și pozitiv și slab, dar cu semnificație statistică cu hs-PCR.
15. IL-6 s-a corelat negativ și slab cu greutatea, pentru întregul lot de studiu și pozitiv și puternic cu hs-PCR pentru lotul martor.
16. Valorile hs-PCR sunt extrem de semnificativ mai mari pentru subiecții din lotul martor, dar fără relație cu obezitatea maternă.
17. Atât media, cât și mediana valorilor greutății din lotul martor au fost semnificativ mai mari.
18. Greutatea se corelează pentru întreg lotul de studiu:
 - negativ și slab, dar cu semnificație statistică, cu leptina,
 - negativ și moderat, dar cu semnificație statistică, cu glicemia,
 - negativ și slab, dar cu semnificație statistică, cu IL-6.
19. Vârsta se corelează pentru întreg lotul de studiu, cu semnificație statistică:
 - puternic și pozitiv cu greutatea,
 - negativ și slab cu leptina,
 - pozitiv și slab cu hs-PCR.
20. Profilul imunologic al copilului în vârsta de 2-23 luni, supraponderal/obez și alimentat cu lapte uman presupune valori crescute ale leptinei și valori normale ale hs-PCR.
21. Profilul imunologic al copilului în vârsta de 2-23 luni, supraponderal/obez și alimentat cu alt tip de lapte decât cel uman presupune:
 - valori crescute ale hs-PCR, sau
 - valori normale ale hs-PCR și crescute ale leptinei, sau
 - valori normale ale hs-PCR, valori normale ale leptinei și valori crescute ale IL-6.
22. Profilul imunologic al copilului 2-23 luni, cu greutate normală și alimentat cu lapte uman presupune valori normale ale leptinei.
23. Profilul imunologic al copilului în vârsta de 2-23 luni, cu greutate normală și alimentat cu alt tip de lapte decât cel uman presupune valori normale ale hs-PCR, valori normale ale leptinei și valori normale ale IL-6.

În final, capitolul 9 cuprinde: contribuții personale, limite ale studiului și recomandări. **Contribuția personală**, în fapt reușita acestei cercetări, rezidă în identificarea unor markeri inflamatori corelați cu obezitatea la copilul cu vârsta cuprinsă între 2-23 luni.

Chiar dacă prelucrarea statistică nu a reușit întotdeauna să furnizeze date semnificative statistic, media și mediana valorilor au demonstrat rolul major al alimentației cu lapte uman în reducerea riscului obezității. Metodele statistice avansate au reușit conturarea profilului imunologic al subiectului cu vârsta cuprinsă între 2-23 luni, alimentat cu lapte uman sau alt tip de lapte decât cel uman, diversificat corespunzător vârstei.

Variabilitatea valorilor parametrilor luați în studiu, pe de o parte, și multitudinea parametrilor utilizați, pe de altă parte, conform, de altfel, și cu alte constatări similare din literatură, au contribuit la generarea unor rezultate mai puțin robuste, conturând împreună cu numărul de cazuri relativ redus ceea ce am putea numi **limitele studiului**.

Pornind de la rezultatele obținute în studiu, cercetări ulterioare vor putea răspunde la întrebările: când debutează obezitatea la copil și care sunt markerii cei mai importanți pentru evidențierea inflamației și a complicațiilor presupuse de obezitate.

Fiecare etapă de studiu, cu realizările și limitele ei, s-ar putea preta la abordarea unor viitoare cercetări.

Astfel, pentru perspectiva realizării unor viitoare studii, **recomandările** sunt următoarele:

- structurarea lotului de studiu să țină cont de grupele de vârstă 0-4 luni, 5-8 luni, 9-12 luni, 24 luni, 6 ani, 12 ani;
- metodologia de lucru să fie completată cu dozări biologice suplimentare (îmuglobuline, profil lipidic).

În prezent, deși determinările proteinei C reactivă ultrasenzitivă, interleukinei-6 și ale leptinei pot părea descurajante și costisitoare, pentru cercetările și practica medicală pediatrică viitoare beneficiile pot depăși costurile.

Din această perspectivă, conturarea profilului imunologic pentru sugarul și copilul în vârstă de 2-23 luni, supraponderal sau obez, alimentat cu lapte uman sau cu alt tip de lapte decât cel uman, reprezintă un pas important în managementul de diagnostic și tratament al obezității la copil.

Bibliografie selectivă

1. ***International Association for the Study of Obesity. Obesity the Global Epidemic (2013). Available from: <http://www.iaso.org/iotg/obesitytheglobalepidemic>
2. Paul IM, Bartok CJ, Downs DS, Stifter CA, Ventura AK, Birch LL. Opportunities for the Primary Prevention of Obesity during Infancy. *Adv Pediatr.* 2009; 56(1): 107–133. doi: 10.1016/j.yapd.2009.08.012
3. Roy SM, Spivack JG, Faith MS, Chesi A, Mitchell JA, Kelly A, Grant SFA, McCormack SE, Zemel BS. Infant BMI or weight-for-length and obesity risk in early childhood. *Pediatrics*, volume 137, number 5 , May 2016:e 20153492
4. David P. McCormick, Kwabena Sarpong, Lindsay Jordan, Laura A. Ray, Sunil Jain. Infant Obesity: Are We Ready to Make this Diagnosis? *The Journal of Pediatrics*, 2010; DOI: 10.1016/j.jpeds.2010.01.028
5. Singer K, Lumeng CN. The initiation of metabolic inflammation in childhood obesity. *J Clin Invest*, 2017; 127(1):65-73
6. von Kries R, Koletzko B, Sauerwald T, et al. Breast feeding and obesity: cross sectional study. *BMJ.* 1999;319(7203):147–150.
7. Tam CS, Garnett SP, Cowell CT, et al. IL-6, IL-8 and IL-10 levels in healthy weight and overweight children. *Horm Res Paediatr.* 2010;73(2):128-134
8. Covarrubias A, Horng T. IL-6 strikes a balance in metabolic inflammation. *Cell Metab* 2014;19(6):898-899
9. Procaccini C, Jirillo E, Matarese G. Leptin as an immunomodulator. *Mol Aspects Med* (2012) 33:35–45. doi:10.1016/j.mam.2011.10.012
10. Li S, Li X. Leptin in normal physiology and leptin resistance. *Sci Bull.* 2016; 61(19): 1480-1488
11. Schuster S, Hechler C, Gebauer C, Kiess W, Kratzsch J. Leptin in maternal serum and breast milk: association with infants' body weight gain in a longitudinal study over 6 months of lactation. *Pediatr Res* 2011; 70: 633–637
12. Kos K, Wong S, Tan B, Kerrigan D, Randevara H, Pinkney J, Wilding J. Human RBP4 adipose tissue expression is gender specific and influenced by leptin. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 2011, 74, 197–205
13. Brunner S, Schmid D, Zang K, Much D, Knoefel B, Kratzsch J, Amann-Gassner U, Bader BL, Hauner H. Breast milk leptin and adiponectin in relation to infant body composition up to 2 years. *Pediatr Obes.* 2015;10:67–73

14. Moreno L, Pigeot A, Wolfgang A. Epidemiology of Obesity in Children and Adolescents. Prevalence and Etiology. Springer Series on Epidemiology and Public Health, Vol. 2, 1st Edition, ISBN 978-1-4419-6038-2, 2011, access: <http://www.spring.com>
15. de Onis M, Blössner M, Borghi E. Global prevalence and trends of overweight and obesity among preschool children. In: *Am J Clin Nutr*, 2010, vol.92, p.1257–1264
16. Ng M. et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. In: *The Lancet*, 2014, vol.384, p.766-781
17. Rodríguez-Hernández H1, Simental-Mendía LE, Rodríguez-Ramírez G, Reyes-Romero MA. Obesity and inflammation: Epidemiology, risk factors, and markers of inflammation. *Int J Endocrinol*. 2013;2013:678159
18. Tam CS, Clement K, Baur LA, Tordjman J. Obesity and low-grade inflammation: a paediatric perspective. *Obes Rev*. 2010 Feb;11(2):118-26. doi: 10.1111/j.1467-789X.2009.00674.x. Epub 2009 Oct 21
19. Sana N, Razia I, Talhat M. Role of interleukin-6 in immunity: A Review. *International Journal of Life Sciences Research*. Vol. 4, Issue 2, pp: (268-274), Month: April - June 2016
20. Fuster J, Walsh K. The good, the bad, and the ugly of interleukin-6 signaling. *The EMBO Journal* (2014) e201488856
21. Muller S, Martin S, Koenig W, Hanifi-Moghaddam P, Rathmann W, Haastert B, Giani G, Illig T, Thorand B, Kolb H: Impaired glucose tolerance is associated with increased serum concentrations of interleukin 6 and co-regulated acute-phase proteins but not TNF-alpha or its receptors. *Diabetologia* 45:805–812, 2002
22. Savino F, Liguori SA, Petrucci E, et al. Evaluation of leptin in breast milk, lactating mothers and their infants. *Eur J Clin Nutr* 2010; 4: 972–977
23. Vickers MH, Sloboda DM. Leptin as mediator of the effects of developmental programming. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2012; 26(5):677–87
24. www.cdc.gov
25. www.bioclinica.ro
26. Maniu I. Tehnici de analiza a datelor: statistica. Editura ULB Sibiu, ISBN 978-606-12-0891-3, pg. 205, 2014

27. Dobrotă L, Neamțu ML. Is obesity due to precocious antibiotic therapy an iceberg phenomenon? *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition* 2016; 10.1097/01.mpg.0000484500.48517.e7
28. Neamțu ML, Dobrotă L, Neamțu B. Terapii nutriționale în boli metabolice. Recomandări nutriționale în practica pediatrică. Editura Universității Carol Davila București, 2013