

Heterogenitatea sindromului metabolic ecvin: între expresie pură și comorbidități

(REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT)

Doctorand **Zsofia Daradics**

Conducător de doctorat **Prof. dr. Cornel CĂTOI**



1. Sindromul metabolic ecvin

1.1. Componentele sindromului metabolic ecvin

În anii recenti a crescut interesul privind riscul laminitei asociată cu obezitatea la cai. Este bine cunoscut faptul că poneii și caii obezi sunt mai predispuși la laminită. Într-o declarație de consens, Colegiul European de Medicină Internă Ecvină recomandă utilizarea termenului de „Sindrom metabolic ecvin” (SME) pentru o disfuncție metabolică marcată de obezitate, rezistență la insulină și laminită (DURHAM și colab., 2019). În medicina umană, sindromul metabolic reunește factorii care cresc riscul bolilor cardiovasculare, incluzând obezitatea, rezistența la insulină, dislipidemia și hipertensiunea arterială. Asociat apare ficatul gras non-alcoolic și sindromul ovarului polichistic. SME împărtășește unele caracteristici ale sindromului metabolic uman, dar diferă prin faptul că laminita este complicația de interes primar (DARADICS ZSOFIA și colab., 2021).

Sindromul metabolic nu este o entitate specifică a bolii, ci mai degrabă un sindrom clinic al cărui urmare este laminita (TREIBER și colab., 2006; CARTER REBECCA și colab., 2009). Țesutul adipos excesiv și localizat, hiperinsulinemia și rezistența la insulină sunt cele trei componente principale ale acestui sindrom. Spre deosebire de sindromul metabolic uman, ateroscleroza și bolile coronariene nu sunt cunoscute la cai, iar acest lucru poate fi explicat prin dieta de tip erbivor a cailor sau prin compoziția sanguină în lipoproteine. Majoritatea colesterolului circulant este transportat legat de lipoproteine cu densitate mare, cele care nu sunt aterogene (WATSON și colab., 1993).

SME nu este o boală de sine stătătoare, ci este o grupare a mai multor factori de risc care duc la apariția complicațiilor, cea mai importantă fiind laminita metabolică. Condiția obligatorie a apariției acestui sindrom, constă în dereglarea funcțiilor insulinei. Termenul propriu-zis de dereglare a insulinei indică pierderea echilibrului dintre concentrația plasmatică a insulinei, a glucozei și a lipidelor. Dereglarea insulinei se poate manifesta în mai multe feluri: hiperinsulinemie, răspuns hiperinsulinemic excesiv și îndelungat la administrarea orală sau intravenoasă a carbohidraților, urmat de hiperglicemie îndelungată și rezistență tisulară periferică la insulină (FRANK și TADROS, 2014).

Obezitatea se exprimă prin depunerea excesivă a țesutului adipos în anumite zone, iar acesta dăunează sănătății individului. Acumularea țesutului adipos poate fi generalizată sau regională (TREIBER și colab., 2006; CARTER REBECCA și colab., 2009), și poate fi acompaniată de predispoziție la îngrășare și rezistență la slăbire (ARGO CAROLINE și colab., 2012). Totuși există excepții, unii indivizi având masa corporală în limitele normale (BAILEY și colab., 2008).

Alte caracteristici des întâlnite pot fi hipertensiunea arterială, tahicardia, hipertr1ofia miocardică (BAILEY și colab., 2008; HELICZER NATALIE și colab., 2017) și

valori anormale ale adipokinelor plasmatice: hipoadiponectinemia și hiperleptinemia (CARTER REBECCA și colab., 2009; MENZIES-GOW și colab., 2017).

Până în momentul de față sindromul metabolic la specia cabalină este în continuă cercetare. Este nevoie de studii viitoare pentru înțelegerea pe deplin a componentelor și mecanismului patofiziologic al sindromului.

1.2. Mecanismul fiziopatologic al sindromului metabolic - Hiperinsulinemia

Hiperinsulinemia joacă un rol central în patofiziologia bolii, acționând atât la nivel hormonal, cât și metabolic asupra individului (DE LAAT și colab., 2016). În mod normal hiperinsulinemia este un răspuns pentru rezistența la insulină, dar în cazul SME hiperinsulinemia este un fenomen care nu poate fi explicat doar prin rezistență la insulină, deoarece poate apărea chiar independent de aceasta (JACOB și colab., 2018). Răspunsul insulenic acut la glucoză justifică prezența compensării rezistenței la insulină. Acest răspuns este apreciat prin rezultatele testărilor de toleranță la glucoză intravenoasă, iar răspunsul insulenic este reprezentat de secreția totală de insulină a pancreasului. Valoarea răspunsului insulenic este mai pregnantă la caii și poneii cu sensibilitate scăzută la insulină (TREIBER și colab., 2005).

Administrarea orală a glucozei stimulează un răspuns insulenic mult mai accentuat decât administrarea intravenoasă. Acest fapt se explică prin participarea tractului gastrointestinal în eliberarea factorilor care stimulează secreția pancreatică a insulinei (DÜHLMEIER și colab., 2001). La cabaline se cunosc trei factori hormoni care contribuie la secreția insulinei și sunt numite incretine: GIP (polipeptidul gastric inhibitor), GLP-1 (peptide glucagon-like-1), GLP-2 (peptide glucagon-like-2). GLP-ul activ stimulează secreția insulinei, iar rolul ei în dereglarea insulenică rămâne necunoscută (DE LAAT și colab., 2016). De asemenea rolul GLP-2 în acest context este deocamdată neînțeles, deoarece acesta nu influențează secreția insulinei, dar crește biodisponibilitatea glucozei (DE LAAT și colab., 2018).

În general o dietă bogată în carbohidrați ușor digerabili reduce sensibilitatea la insulină și de asemenea reduce valorile adiponectinei. O rație alcătuită din fibroase și bogată în lipide nu determină aceeași schimbări (BAMFORD și colab., 2016; TREIBER și colab., 2005).

Hiperinsulinemia poate rezulta și din cauza clearance-ului hepatic scăzut. Ficatul elimină 70% din insulină prin circulația venei porte la indivizii sănătoși. La cei cu sindrom metabolic se evidențiază un clearance redus față de normal (TÓTH și colab., 2010). La unii cai cu sindrom metabolic se poate evidenția o creștere a enzimelor hepatice (GGT, AST) și o acumulare de lipide în hepatocite. Impactul obezității asupra funcțiilor ficatului se reflectă prin reducerea capacității clearance-ului hepatic al insulinei, generând rezistență la insulină (SAMUEL și colab., 2010).

1.3. Dezvoltarea complicației primare – laminita

Hiperinsulinemia este elementul cheie în inducerea experimentală a laminitei. Într-un studiu, desfășurat pe un lot de cai laminita a fost indusă prin administrare de insulină și glucoză într-un interval de 48 ore (ASPLIN KATIE, 2007; DE LAAT și colab., 2010). Nivelul de prag al hiperglicemiei (media 11 mmol/L) și a hiperinsulinemiei (media 208 μ IU/mL) induc leziuni caracteristice de laminită (DE LAAT și colab., 2012). Pentru diagnosticul laminitei, sistemul de scor al lui Obel (Obel Grading System) este cel mai acceptat și larg folosit de clinicieni și cercetători. În funcție de severitate se acordă puncte de la 1 la 4 (OBEL și PHIL, 1948).

Leziunile de laminită metabolică apar inițial la nivelul lamelelor secundare a epidermei care fac parte din structura angrenajului cornului copitei. Aceste lamele secundare examinate histologic sunt mai alungite și mai subțiri față de normal, au o angulație mai pronunțată asupra axului lung al lamelelor primare, iar vârfurile lor sunt efilate (PATTERSON-KANE JANET și colab., 2018). La celulele epiteliale lamelare se observă această întindere chiar după 6 ore continue de hiperinsulinemie și indică ruperea citoscheletului (PATTERSON-KANE JANET și colab., 2018). Aceste schimbări pot induce apoptoză celulară și o proliferare accelerată. Pe acest fond se explică deformarea cornului copitei cu prezența „inelelor laminitice” vizibile macroscopic (DE LAAT și colab., 2013; KARKOSKI și colab., 2014, 2015).

Teoria cea mai acceptată, ca stând la baza declanșării laminitei este reprezentată de o schimbare în semnalarea intracelulară a insulinei, care rezultă într-o disfuncție endotelială. În cazul indivizilor sănătoși, stimularea receptorilor de insulină inițiază trimiterea mesajelor intracelulare prin calea metabolică, care produce vasodilatație prin acțiunea oxidului nitric. În cazul cailor insulin-rezistenți această cale este blocată și este favorizată calea MAP-kinazei, o proteină care duce la vasoconstricție mediată de endotelina-1. Efectul MAP-kinazei se traduce prin constricția vaselor digitale și a arterelor lamelare (VENUGOPAL și colab., 2011; WOOLDRIDGE și colab., 2014; MORGAN RUTH și colab., 2016).

Receptorul factorului de creștere de tip insulinic-1 (IGF-1) se regăsește atât pe celulele epiteliale lamelare, cât și în endoteliu, în timp ce receptorul insulinei doar pe celulele endoteliale (BURNS și colab., 2013). Acest IGF-1 a câștigat teren prin faptul că are o similitudine cu receptorul insulinic, iar concentrațiile mari de insulină produc activarea sa și rezultă semnalarea intracelulară prin calea MAP-kinazei (DE LAAT și colab., 2013), ducând la vasoconstricție la nivelul vaselor acropodiului. Creșterea semnalării intracelulare de către acțiunea IGF-1 a fost reprodusă experimental prin administrarea de carbohidrați și insulină exogenă.

Într-un alt studiu, BURNS și colab. (2015) pun în evidență modificări ale expresiei COX-2. Se presupune că această enzimă, responsabilă de transformarea acidului arahidonic în prostaglandina E2 (în urma eliberării acidului arahidonic prin liza fosfolipidelor membranare de către fosfolipazele C și D și apoi A), poate controla astfel

reacția inflamatorie locală prin efect paracrin, respectiv poate stimula diviziunea celulară, dar și tranziția între tipuri celulare, în special tranziția de la tipul celular epitelial la tipul mezenchimal. Deși această tranziție ar avea impact pozitiv asupra recuperării locale și reconstrucției structurilor distruse, din punct de vedere biomecanic, zona copitei cailor este o zonă supusă unor forțe-stresor semnificative și o astfel de tranziție celulară ar putea slăbi suplimentar zona, având efecte nefaste. Având în vedere acestea, deși laminita specifică sindromului metabolic diferă fundamental de laminita endotoxică, aceasta ar putea avea de câștigat prin tratamentul cu inhibitori specifici COX-2, disponibili deja pentru tratamentul altor patologii la multiple specii.

STRUCTURA LUCRĂRII

Lucrarea intitulată „Heterogenitatea sindromului metabolic ecvin, între expresie pură și comorbidități” cuprinde 192 de pagini și este redactată conform normelor în vigoare, fiind structurată în două părți.

Prima parte, respectiv cea bibliografică, este formată dintr-un studiu bibliografic cu 24 de subcapitole și cuprinde 28 de pagini. În această parte a tezei am sintetizat cadrul general actual al cunoașterii componentelor, fiziopatologiei, aspectelor clinice, consecințelor, respectiv metodelor de diagnostic și tratament în cadrul sindromului metabolic ecvin.

În cea de a doua parte, extinsă pe 142 pagini, structurată în 7 capitole și 8 studii, am detaliat cercetările personale realizate în perioada 2019-2021 pe zona de Nord-Vest a Transilvaniei. Primul capitol prezintă scopul și obiectivele lucrării, iar al doilea materialele și metodele utilizate. Restul capitolelor sunt împărțite în subcapitole ce prezintă scopul și obiectivele, respectiv rezultatele obținute cu discuțiile aferente asupra noutății acestora comparativ cu alte studii efectuate până în momentul actual și concluziile parțiale aduse în urma efectuării fiecărui studiu în parte. Rezultatele cercetării au fost ilustrate printr-un număr de 139 de figuri și sintetizate în 66 de tabele.

Lucrarea de față se încheie cu bibliografia citată, însumând 175 de titluri.

REZULTATELE CERCETĂRII

În partea a doua a prezentei lucrări, am studiat aspectele clinice, epidemiologice, moleculare și patologice ale sindromului metabolic ecvin, în perioada anilor 2019-2021, în partea de Nord-Vest a Transilvaniei. Scopul nostru a fost evaluarea unor aspecte nutriționale, clinice și umorale în SME diagnosticat la rasa Semigreu Românesc din zona de Nord-Vest a Transilvaniei, respectiv demonstrarea faptului că afecțiunile secundare sindromului metabolic pot duce la apariția diverselor complicații, cea mai importantă la cabaline fiind laminita.

Compararea valorilor variabilelor studiate între diverse populații s-a realizat, în funcție de scala pe care au fost măsurate variabilele, de volumele eșantioanelor și de numărul populațiilor comparate, prin testele: Shapiro-Wilk, χ^2 , Kruskal-Wallis, Mann-Whitney, ANOVA, testul t pentru eșantioane independente sau testul t pentru eșantioane perechi.

În capitolul 5 se prezintă următoarele studii:

Studiul I., intitulat „Determinarea macronutrienților din rația cabalinelor cu sindrom metabolic” a avut ca și obiectiv corelarea aspectelor clinice și umorale cu cele nutriționale și posibila implicare a fructanilor în apariția laminitei sau a altor comorbidități. Pentru realizarea acestui obiectiv s-au efectuat următoarele analize: determinarea compoziției floristice a probelor de furaj corespunzătoare fiecărui individ sau grup de indivizi din fiecare zonă geografică urmărind principalele tipuri de plante care predispun la obezitate, respectiv determinarea glucidelor, lipidelor și fructanilor din rația cabalinelor și evaluarea efectelor acestor macroelemente asupra condiției corporale.

În urma realizării acestui studiu reies următoarele:

1. Depunerea țesutului adipos localizat variază în funcție de tipul de alimentație, mai ales la nivelul crestei cervicale.

2. Concentratele au un conținut mult mai mare de fructani și de grăsimi decât celelalte sortimente furajere analizate.

3. Gradul de adipozitate a crestei cervicale crește odată cu conținutul de glucide și lipide din rație.

4. Cabalinele care au manifestat laminită cronică în stadiu avansat au avut un nivel scăzut ale glucidelor în hrană și au fost furajate în special cu fân natural amestec.

5. Dieta hiperglucidică duce la creșterea insulinemiei și scăderea leptinemiei.

6. Nu s-au găsit corelații care să susțină implicarea fructanilor în apariția laminitei, cel puțin la această rasă de cai, fiind necesare studii ulterioare.

Studiul II., intitulat „Evaluarea calitativă, cantitativă și histomorfometrică a țesutului adipos” a avut ca obiectiv evaluarea asocierii markerilor hormonalai ai obezității (leptină și adiponectină) și rezistența la insulină cu măsurătorile morfometrice și ultrasonografice ale țesutului adipos de la nivelul gâtului și corpului la caii semigrei, respectiv evaluarea histologică și imunohistochimică a țesutului adipos.

Acest studiu a fost structurat în patru părți distincte:

1. Prima parte a fost axată pe evaluarea clinică a gradului de obezitate la cabaline determinând Scorul de Condiție Corporală și Scorul Crestei cervicale (figurile 1 și 2);

2. A doua parte s-a axat pe evaluarea cantitativă a adipozității localizate prin măsurarea circumferinței cervicale și măsurarea ecografică a stratului de țesut adipos în cele șapte zone predilecte la cabalinele la care a fost identificată hiperinsulinemia și hiperleptinemia.



Fig. 1 Evaluarea scorului de condiție corporală după Henneke (1983). Individ în vîrstă de 5 ani, femelă cu Scor de Condiție Corporală de 8 (Original)



Fig. 2 Evaluarea crestei cervicale prin inspecția și palparea zonei la un individ în vîrstă de 8 ani. (Original)

3. A treia parte, sau studiul morfometric al țesutului adipos la cabalinele hiperinsulinemice și normoinsulinemice a avut ca scop stabilirea unei corelații între dimensiunile adipocitelor și starea de obezitate din cele două zone distincte, respectiv zona crestei și zona perirenală.

4. A patra parte s-a axat pe evaluarea morfologică și fiziologică a țesutului adipos la cabalinele supraponderale și normoponderale prin examenul histologic și imunohistochimic a țesutului adipos din cele două zone de interes.

În urma realizării acestui studiu am concluzionat următoarele:

1. Acumularea țesutului adipos diferă în funcție de zonele geografice luate în studiu, activitatea fizică și statusul hormonal.

2. Caii diagnosticați cu sindrom metabolic au fost hiperinsulinemici și atât măsurătorile cervicale, cât și cele ecografice s-au corelat pozitiv cu adipokinele serice.

3. Prin analiza histomorfometrică a adipocitelor s-a constatat că adipocitele din lotul metabolic au un diametru semnificativ crescut în comparație cu lotul sănătos, unde s-a constatat micșorarea diametrului, respectiv un număr crescut al acestora.

4. În cadrul evaluării histopatologice, cea mai importantă modificare patologică a fost reprezentată de hipertrofia adipocitelor în ambele zone anatomice luate în studiu

5. O imunoexpresie crescută a chemerinei a fost observată la nivelul țesutului adipos la lotul SME, dar implicarea acesteia în sindromul metabolic necesită studii ce implică un număr mai mare de animale.

Studiul III, intitulat „Determinarea profilului hematologic și biochimic la cabalinele supraponderale și obeze” a avut ca obiectiv corelarea unor markeri umorali ai homeostaziei glucidice (insulină și hemoglobină glicozilată), adipokinelor (leptină, adiponectină, omentină și chemerină), lipidelor serice (colesterol total și acizi grași neesterificați) și kynureninei cu trăsăturile morfologice a cabalinelor luate în studiu.

Pentru a realiza acest obiectiv, au fost necesare următoarele determinări:

1. Determinarea insulinei, leptinei și adiponectinei din probe de ser prelevate de la cabaline suspecte de sindrom metabolic din cadrul etapei *intra-vitam*;
2. Determinarea nivelurilor plasmaticice ale insulinei, hemoglobinei glicozilate, omentinei, chemerinei, respectiv acizilor grași neesterificați și colesterolului total din eșantioane provenite de la cabaline supraponderale și obeze din cadrul etapei *post-mortem*;
3. Determinarea kynureninei din probe de plasmă din cadrul etapei *post-mortem*.

În urma realizării acestui studiu am concluzionat următoarele:

1. La indivizii diagnosticați cu SME, hiperinsulinemia este urmată de hiperleptinemie.
2. Mânji au niveluri mai ridicate de leptină și adiponectina, față de indivizii adulți.
3. Insulina serică se corelează semnificativ statistic cu măsurătoarea cervicală superioară la întreg lotul studiat.
4. Adiponectina se corelează pozitiv cu sexul masculin.
5. Insulina și leptina au avut creșteri și descreșteri aleatorii între grupe, însă adiponectina s-a menținut scăzută în majoritatea corelațiilor.
6. Acizii grași liberi, ca o variabilă dependentă, se corelează pozitiv atât cu greutatea și vârsta, cât și cu Scorul Condiției Corporale și Scorul Crestei Cervicale
7. Colesterolul total se corelează semnificativ cu greutatea, fiind un marker prețios în diagnosticul SME.
8. Omentina se corelează semnificativ cu Scorul Crestei Cervicale, zona cervicală fiind predispusă la acumularea de țesut adipos la indivizii cu SME.
9. Acizii grași liberi se corelează pozitiv atât cu greutatea, cât și cu Scorul Crestei Cervicale, fiind un predictor util al gradului de obezitate la indivizii cu sindrom metabolic.
10. Scorurile corporale se corelează pozitiv cu greutatea în cadrul grupei 4.
11. Grupele 1 și 4 rezultate din analiza de clusteri sunt grupe contrastante, privind valorile acizii grași liberi, omentină, chemerină, respectiv a scorurilor corporale.
12. Cabalinele cu sindrom metabolic prezintă niveluri mai ridicate de kynurenină și hemoglobină glicozilată în comparație cu indivizii din grupul control.
13. La indivizii non-SME atunci când crește hemoglobina glicozilată, scad valorile Scorului Crestei Cervicale, respectiv colesterolul.
14. Kynurenina crește simetric cu omentina și chemerina, deci poate fi considerat un marker util al SME.

Studiul IV., intitulat „Compoziția minerală a firului de păr la cabalinele cu sindrom metabolic” a avut ca obiectiv evaluarea compoziției minerale elementare a firelor de păr colectate de la caii din rasa Semigreu afectați de sindromul metabolic ecvin cu scopul de a introduce acest tip de analiză ca instrument auxiliar valoros și neinvaziv în diagnosticul acestei patologii.

Pentru realizarea acestui obiectiv a fost utilizată metoda analizei spectrometrice precedată de protocolul de digestie a firelor de păr.

În urma realizării acestui studiu am concluzionat următoarele:

1. În cadrul grupului de cai sănătoși, comparativ cu indivizii cu sindrom metabolic, au fost detectate niveluri semnificativ crescute de minerale.

2. Analiza firului de păr în ceea ce privește conținutul de micro și macroelemente, este un instrument valoros de diagnostic iar ulterior în prevenirea și tratamentul obezității asociate SME.

3. Deși pe parcursul acestui studiu loturile de cercetat nu au fost foarte numeroase, rezultatul obținut pare a fi promițător în ceea ce privește simplificarea protocolului de diagnostic SME. Această metodă este neinvazivă și foarte rapidă.

4. Recomandăm suplimentarea dietei cabalinelor cu sindrom metabolic cu minerale precum Zn, Mg, Ca și Cr.

5. În cadrul grupului SME, pe măsură ce cresc valorile K, cresc și valorile colesterolului, deci K poate fi considerat un marker metabolic important. În același timp concentrația în K a firelor de păr, crește cu vârsta.

6. În cadrul eșantionului complet, Cu crește simetric cu chemerina, omentina, iar K și Na crește cu colesterolul. Pb și Zn cresc simetric cu hemoglobina glicozilată.

Studiul V., intitulat „Evaluarea factorului genetic implicat în etiopatogeneza sindromului metabolic: expresia genei FAM 174A” a avut ca obiectiv determinarea asocierii pozitive la nivel de genom dintre o alelă de risc pentru sindromul metabolic ecvin și fenotipul care prezintă obezitate și rezistență la insulină.

Pentru realizarea acestui obiectiv a fost utilizată metoda amplificării PCR care vizează regiunea genei FAM174A.

În urma realizării acestui studiu am concluzionat următoarele:

1. S-a constatat că un număr semnificativ mai mare de cai cu sindrom metabolic au prezentat perechea de nucleotide 11-G.

2. În lotul non-SME mai mult de jumătate dintre cai prezintă alela 8-G, 9-G sau 10-G a genei FAM 147A.

3. În cadrul lotului SME, 13 dintre cei 15 cai au cota z foarte mare la colesterol sau insulină, acest rezultat corelându-se cu prezența perechii de nucleotide 11-G.

4. Valorile kynureninei s-au corelat pozitiv cu prezența alelei 8-G.

5. Cele mai mici valori pentru Mn din firul de păr le au caii cu alela 10-G, iar cele mai mari caii cu alela 8-G a genei FAM 147A.

Studiul VI., intitulat „Tulburări de reproducție asociate sindromului metabolic ecvin” a avut ca obiectiv determinarea corelațiilor dintre fertilitatea iepelor și rezistența la insulină, hipoadiponectinemie, hiperinsulinemie și hiperleptinemie.

Pentru a realiza acest obiectiv, s-au determinat valorile serice a insulinei, leptinei și adiponectinei la toate iepelile incluse în studiu.

În urma realizării acestui studiu am concluzionat următoarele:

1. Iepele gestante au avut nivelul insulinei mai scăzut decât ceilalți cai, respectiv iepetele gestante au avut nivelul insulinei mai scăzut decât celelalte iepete.
2. Pentru adiponectină, diferențe semnificative sunt numai între masculii și femele.
3. Pentru leptină nu a fost înregistrată nici o diferență semnificativă statistic.

Studiul VII., intitulat „Laminita endocrinopatică, complicația majoră a sindromului metabolic ecvin: evaluare clinică, histologică și imunohistochimică” a avut ca obiectiv evaluarea clinică, histologică și imunohistochimică a laminitei endocrinopatice (cronice) și corelarea cu aspectele morfologice și markerii metabolici.

Pentru realizarea acestui obiectiv s-au utilizat următoarele metode:

1. Evaluarea clinică și radiologică a laminitei endocrinopatice (cronice) la indivizii afectați.

2. Evaluarea modificărilor histologice și imunohistochimice ale copitei afectate de laminita endocrinopatică (cronică).

În urma realizării acestui studiu am concluzionat următoarele:

1. Diferențele grade de șchiopătură s-au confirmat prin examen radiologic, prin prezența inflamației locale, pierderea angrenajului dintre lamele podofiloase și cele cherafiloase, respectiv rotirea falangei a III-a.

2. Examenul histologic a confirmat modificările caracteristice laminitei endocrinopatice (cronice) la nivelul țesutului moale și osos a falangei a III-a, respectiv necroză severă, infiltrat inflamator și aspecte de remodelare osoasă.

Studiul VIII., intitulat „Studiul histomorfologic al ficatului și rinichiului în sindromul metabolic ecvin” a avut ca obiectiv investigarea histomorfologică a modificărilor hepatice și renale cauzate de creșterea în greutate la cabalinele afectate de sindrom metabolic.

Pentru a realiza acest obiectiv s-a efectuat evaluarea morfologică și histopatologică calitativă a probelor recoltate din ficat și rinichi, urmărind apariția anumitor leziuni specifice obezității în cadrul sindromului metabolic ecvin.

În urma realizării acestui studiu am concluzionat următoarele:

1. În urma examenului histopatologic al ficatului, s-a remarcat prezența modificărilor patologice specifice sindromului metabolic, prin urmare putem afirma că steatoza cauzată de creșterea în greutate, joacă un rol important în dezvoltarea comorbidităților asociate obezității la cabaline.

2. Lipidoza renală la cabaline, în contextul sindromului metabolic, este o altă comorbiditate importantă, încă puțin studiată la această specie.

În cadrul **capitolului 6** am descris concluziile generale și recomandările. Identificarea anumitor corelații între acizii grași liberi, noile adipokine și trăsăturile morfologice atât în cazul oamenilor cât și la cabalinele afectate de sindrom metabolic, susțin ideea conform căreia, constituenții biochimici sanguini evaluați pot fi considerați

markeri relevanți în diagnosticul acestei noi afecțiuni. Mai mult, determinarea acestor markeri ar putea constitui o nouă metodă de screening în laboratoarele specializate cu scopul de a preveni apariția comorbidităților acestei boli.

Rezultatele studiului sunt amplificate de specificitatea crescută a secvențierii ADN, determinărilor ELISA, spectrometriei, spectrofluorimetriei, respectiv imunohistochemiei, metode utilizate în această lucrare, pentru a pune în evidență contribuția hormonilor (insulina, leptina și adiponectina), adipokinelor (chemerina și omentina) și kynureninei în sindromul metabolic ecvin.

Prezența chemerinei atât la nivel plasmatic, cât și la nivelul țesutului adipos ar putea fi considerat un nou biomarker pentru sindromul metabolic, însă necesită studii ulterioare. O altă metodă exactă de diagnostic a fost investigarea funcțiilor unei gene care predispon la sindromului metabolic ecvin prin rolul său în homeostazia colesterolului. Un alt marker de diagnostic util investigat în cazul indivizilor metabolici, a fost determinarea compoziției minerale a firului de păr, care s-a dovedit a fi un nouă metodă neinvazivă, care poate fi folosită cu succes în condiții de teren.

În urma rezultatelor acestui studiu am **concluzionat** următoarele:

1. Depunerea țesutului adipos localizat variază în funcție de tipul de alimentație, mai cu seamă la nivelul crestei cervicale, zonă caracteristică sindromului metabolic ecvin.
 2. Concentratele au un conținut mai mare de fructani și de grăsimi în comparație cu celelalte tipuri de furaje.
 3. Caii diagnosticați cu sindrom metabolic au fost hiperinsulinemici și atât măsurătorile cervicale, cât și cele ecografice s-au corelat pozitiv cu valorile adipokinelor serice.
 4. O imunoexpresie crescută a chemerinei a fost observată la nivelul țesutului adipos la lotul SME, mai specific în zona crestei cervicale, dar implicarea acesteia în sindromul metabolic necesită studii ce implică un număr mai mare de cabaline.
 5. Acizii grași liberi, ca o variabilă dependentă, se corelează pozitiv atât cu greutatea și vârsta, cât și cu Scorul Condiției Corporale și Scorul Crestei Cervicale.
 6. Omentina se corelează semnificativ cu Scorul Crestei Cervicale, respectiv crește simetric cu kynurenina și chemerina, acestea fiind considerați markeri utili pentru sindromul metabolic la oameni, însă acum și la cabaline.
 7. În cadrul lotului de cabaline, cuprul crește în același timp cu chemerina și omentina, iar potasiul și sodiul simetric cu hemoglobina glicozilată.
 8. S-a constatat că un număr semnificativ mai mare de cabaline cu sindrom metabolic au prezentat alela genei FAM174A cu 11-G, iar în lotul non-metabolic au predominat alelele cu 8-G, 9-G sau 10-G.
 9. În cadrul lotului cu sindrom metabolic, cabalinele cu cota z ridicată pentru insulină și colesterol au prezentat gena FAM174A cu 11-G.
1. Iepele gestante au avut nivelul insulinic mai scăzut decât ceilalți cai studiați.

2. Pentru adiponectină, diferențe semnificative sunt doar între masculi și femele.

12. Diferitele grade de șchiopătură s-au confirmat prin examen radiologic, prin prezența inflamației locale, pierderea angrenajului dintre lamele podofiloase și cele cherafiloase, respectiv rotirea falangei a III-a.

13. Examenul histologic a confirmat modificările caracteristice laminitei endocrinopatie (cronice) la nivelul țesutului moale și osos a falangei a III-a, respectiv necroză severă, infiltrat inflamator și aspecte de remodelare osoasă.

14. Examenul histopatologic al ficatului a evidențiat prezența modificărilor patologice specifice sindromului metabolic ecvin. În consecință, steatoza asociată creșterii în greutate joacă un rol important în dezvoltarea comorbidităților asociate obezității la cabaline.

15. Lipidoza renală, în contextul sindromului metabolic la cabaline este o altă comorbiditate importantă, dar încă puțin studiată la această specie.

16. Cu toate că pe parcursul acestui studiu numărul de subiecți evaluați nu a fost foarte mare, totuși rezultatele obținute sunt promițătoare în privința simplificării protocolului de diagnostic în SME.

În urma analizei rezultatelor acestui studiu extensiv asupra sindromului metabolic la specia cabalină, **recomandăm** următoarele:

1. Deoarece concentratele sunt furaje hiperglucidice și hiperlipidice, recomandăm evitarea excesului lor atât în rația cabalinelor diagnosticate cu sindrom metabolic, cât și celor sănătoase.

2. Înmuierea în apă a furajului fibros înainte de consum, este o metodă eficientă în reducerea conținutului de carbohidrați hidrosolubili.

3. Exerciții fizic moderat introdus în programul cabalinelor cu sindrom metabolic de minim 30 de minute, 5-6 zile pe săptămână cu scopul utilizării lipidelor în producerea de energie. Excepție de la acest program, fac indivizii afectați de laminită.

4. În cazul în care locul permite, recomandăm amplasarea stațiilor de furajare cât mai departe una de cealaltă, pentru a încuraja mișcarea cabalinelor.

5. Scorul de Condiție Corporală și Scorul Crestei Cervicale sunt metode utile în diagnosticul obezității la cabaline.

6. Pentru cabalinele obeze și laminitice este obligatoriu includerea unui protocol de diagnostic privind determinările sanguine de hemoglobină glicozilată, insulină, leptină și adiponectină.

7. O nouă metodă paraclinică neinvazivă de diagnostic ar fi determinarea mineralelor din firele de păr, facil de efectuat în teren.

8. Recomandăm suplimentarea dietei cabalinelor cu sindrom metabolic cu minerale precum zinc, magneziu, calciu și crom.

9. La indivizi cu laminită endocrinopatică (cronică) sau în cazul ameliorării unei rase, un instrument de diagnostic util ar fi evaluarea expresiei genei FAM174A.

10. Evaluarea factorului genetic implicat în etiopatogeneza sindromului metabolic ecvin este un instrument rapid și foarte exact în diagnosticul acestei metaboloPATII.

11. Iepele și armăsarii supraponderali sunt predispuși la probleme de fertilitate, tocmai din această cauză recomandăm un screenig hormonal înainte de a-i folosi la reproducție.

12. În bolile endocrine la ecvine, nu doar SME are un rol important asupra statusului reproductiv, ci și Sindromul Cushing Ecvin (PPID), deci cu atât mai mult recomandăm testele hormonale.

13. La orice șchiopătură observată clinic, se recomandă evaluarea atât a condiției corporale, cât și a membrului, respectiv examenul radiologic.

14. Se va reevalua dieta și activitatea fizică a cabalinelor confirmate clinic și paraclinic cu laminită.

15. Pentru a evita pe cât posibil comorbiditățile în ceea ce privește ficatul și rinichiul, recomandăm efectuarea de analize biochimice la cabalinele supraponderale și obeze, cu accent pe markerii hepatici și renali.

16. Cel mai eficace mod de a evita complicațiile sindromului metabolic ecvin este educația proprietarilor în ceea ce privește alimentația și efortul fizic.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. ARGO CAROLINE M., CURTIS GEMMA C., GROVE-WHITE D., DUGDALE ALEXANDRA H., BARFOOT CLARE F., HARRIS PATRICIA A., 2012, Weight loss resistance: a further consideration for the nutritional management of obese *Equidae*. *Vet J.*, 194(2):179-188. doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.09.020
2. ASPLIN KATIE E., SILENCE M.N., POLLITT C.C., MCGOWAN CATHERINE M., 2007, Induction of laminitis by prolonged hyperinsulinaemia in clinically normal ponies. *Vet J.*, 174(3):530-535. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.07.003.
3. BAILEY S.R., HABERSHON-BUTCHER J.L., RANSOM KATHRYN J., ELLIOT J., MENZIES-GOW N.J., 2008, Hypertension and insulin resistance in a mixed-breed population of ponies predisposed to laminitis: further characterizing pre-laminitic metabolic syndrome, *AM J VET RES.*, 69(1):122-129. . doi: 10.2460/AJVR.69.1.122.
4. BAMFORD N.J., POTTER S.J., BASKERVILLE C.L., HARRIS PATRICIA A., BAILEY S.R., 2016, Effect of increased adiposity on insulin sensitivity and adipokine concentrations in different equine breeds adapted to cereal-rich or fat-rich meals, *Vet J.*, 214:14-20. doi: 10.1016/j.tvjl.2016.02.002.
5. BURNS T.A., WATTS M.R., WEBER P.S., MCCUTCHEON L.J., GEOR R.J., BELKNAP J.K., 2013, Distribution of insulin receptor and insulin-like growth factor-1 receptor in the digital laminae of mixed-breed ponies: an immunohistochemical study. *Equine Vet J.*, 45(3):326-332. doi: 10.1111/j.2042-3306.2012.00631.x.
6. BURNS TA, WATTS MR, WEBER PS, MCCUTCHEON LJ, GEOR RJ, BELKNAP JK., 2015, Lamellar inflammatory events in lean and obese ponies subjected to high carbohydrate feeding: Implications for pasture-associated laminitis. *Equine Vet J.* 2015 Jul;47(4):489-93. doi: 10.1111/evj.12314.
7. CARTER REBECCA A., TREIBER K.H., GEOR R.J., DOUGLASS L., HARRIS PATRICIA A., 2009, Prediction of incipient pasture associated laminitis from hyperinsulinaemia, hyperleptinaemia and generalised and localised obesity in a cohort of ponies, *Equine Vet J.*, 41(2):171-178. doi: 10.2746/042516408x342975..
8. DARADICS ZSOFIA; CRECAN C.M, RUS MIRELA ALEXANDRA, MORAR I.A., MIRCEAN, M.V., CĂTOI, ADRIANA FLORINELA., CECAN ANDRA DIANA, CĂTOI, C., 2021, Obesity-Related Metabolic Dysfunction in Dairy Cows and Horses: Comparison to Human Metabolic Syndrome., *Life* 2021, 11, 1406. doi: 10.3390/life11121406.
9. DE LAAT M.A., MCGOWAN CATHERINE M., SILENCE M.N., POLLITT C.C., 2010, Equine laminitis: induced by 48 h hyperinsulinaemia in Standardbred horses. *Equine Vet J.*, 42(2):129-135. . doi: 10.2746/042516409X475779.
10. DE LAAT M.A., SILENCE M.N., MCGOWAN CATHERINE M., POLLITT C.C., 2012, Continuous intravenous infusion of glucose induces endogenous hyperinsulinaemia and lamellar histopathology in Standardbred horses. *Vet J.*, 191(3):317-322. doi: 10.1016/j.tvjl.2011.07.007
11. DE LAAT M.A., PATTERSON-KANE J.C., POLLITT C.C., SILENCE M.N., MCGOWAN CATHERINE M., 2013, Histological and morphometric lesions in the pre-clinical, developmental phase of insulin-induced laminitis in Standardbred horses. *Vet J.*, 195(3):305-312.
12. DE LAAT M.A., POLLITT C.C., KYAW-TANNER M.T., MCGOWAN CATHERINE M., SILENCE M.N., 2013, A potential role for lamellar insulin-like growth factor-1 receptor in the pathogenesis of hyperinsulinaemic laminitis. *Vet J.*, 197(2):302-306 doi: 10.1016/j.tvjl.2012.12.026.
13. DE LAAT M.A., MCGREE J.M., SILENCE M.N., 2016, Equine hyperinsulinemia: investigation of the enteroinsular axis during insulin dysregulation, *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 310(1):E61-E72 doi: 10.1152/ajpendo.00362.2015

14. DE LAAT M.A., FITZGERALD D.M., SILLENCE M.N., SPENCE R.J., 2018, Glucagon-like peptide-2: A potential role in equine insulin dysregulation, *Equine Veterinary Journal*. doi:10.1111/evj.12825. doi: 10.1111/evj.12825
15. DUGDALE A.H., CURTIS G.C., CRIPPS P., HARRIS PATRICIA A., 2010, Effect of dietary restriction on body condition, composition and welfare of overweight and obese pony mares. *Equine Vet J*, 42(7):600–10. doi: 10.1111/j.2042-3306.2010.00110.x
16. DÜHLMEIER R., DEEGEN E., FUHRMANN H., WIDDEL A., SALLMANN H.P., 2001, Glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) and the enteroinsular axis in equines (*Equus caballus*), *Comp Biochem Physiol A*
17. DURHAM A.E., N. FRANK, C.M. MCGOWAN, N.J. MENZIES-GOW, E. ROELFSEMA, I. VERVUERT, K. FEIGE, K. FEY, 2019, ECEIM consensus statement on equine metabolic syndrome., *J Vet Intern Med.*, 33:335–349. doi: 10.1111/jvim.15423.
18. FRANK N., TADROS E.M., 2014, Insulin dysregulation, *Equine Vet J*, 46(1): 103-112. doi: 10.1111/evj.12169.
19. HELICZER NATALIE, GERBER V., BRUCKMAIER R., VAN DER KOLK JOHANNES H., DE SOLIS C.N., 2017, Cardiovascular findings in ponies with equine metabolic syndrome. *J Am Vet Med Assoc.*, 250(9):1027-1035 doi: 10.2460/javma.250.9.1027
20. JACOB S.I., GEOR R.J., WEBER P.S.D., HARRIS PATRICIA A., MCCUE M.E., 2018, Effect of age and dietary carbohydrate profiles on glucose and insulin dynamics in horses, *Equine Vet J*, 50(2):249-254. doi: 10.1111/evj.12745
21. KARIKOSKI N.P., PATTERSON-KANE JANET C., ASPLIN KATIE E., MCGOWAN T.W., MCNUTT MEGAN, SINGER ELLEN R., MCGOWAN CATHERINE M., 2014, Morphological and cellular changes in secondary epidermal laminae of horses with insulin-induced laminitis. *Am J Vet Res.*, 75(2):161-168. doi: 10.2460/ajvr.75.2.161
22. KARIKOSKI N.P., MCGOWAN CATHERINE M., SINGER ELLEN R., ASPLIN KATIE E., TULAMO R-M., PATTERSON-KANE JANET C., 2015, Pathology of natural cases of equine endocrinopathic laminitis associated with hyperinsulinemia. *Vet Pathol.*, 52(5):945-956 doi: 10.1177/0300985814549212
23. MENZIES-GOW N.J., HARRIS P.A., ELLIOTT J., 2017, Prospective cohort study evaluating risk factors for the development of pasture-associated laminitis in the United Kingdom. *Equine Vet J*, 49(3):300-306. doi: 10.1111/evj.12606
24. MORGAN RUTH A., KEEN J.A., WALKER B.R., HADOKE P.W., 2016, Vascular dysfunction in horses with endocrinopathic laminitis. *PLoS One.*, 11(9):e0163815 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163815-1>
25. OBEL N., PHIL D., 1948, Studies on the histopathology of acute laminitis. *Almqvist and Wiksells Boktryckeri, Uppsala*
26. PATTERSON-KANE JANET C., KARIKOSKI N.P., MCGOWAN CATHERINE M., 2018, Paradigm shifts in understanding equine laminitis. *Vet J*, 231:33-40 doi: 10.1016/j.tvjl.2017.11.011
27. SAMUEL V.T., PETERSEN KITT F., SHULMAN G.I., 2010, Lipid-induced insulin resistance: unravelling the mechanism, *Lancet*, 375(9733):2267–77. doi: 10.1016/s0140-6736(10)60408-4
28. TÓTH F., FRANK N., MARTIN-JIMÉNEZ T., ELLIOT S.B., GEOR R.J., BOSTON R.C., 2010, Measurement of C-peptide concentrations and responses to somatostatin, glucose infusion, and insulin resistance in horses, *Equine Vet J*, 42(2):149-155. doi: 10.2746/042516409x478497
29. TREIBER K.H., BOSTON R.C., KRONFELD D.S., STANIAR W.B., HARRIS PATRICIA A., 2005, Insulin resistance and compensation in Thoroughbred weanlings adapted to high-glycemic meals, *J Anim Sci.*, 83(10):2357-2364. doi: 10.2527/2005.83102357x
30. TREIBER K.H., KRONFELD D.S., HESS TANJA M., BOSTON R.C., HARRIS PATRICIA A., 2005, Use of proxies and reference quintiles obtained from minimal model analysis for determination of insulin sensitivity and pancreatic beta-cell responsiveness in horses, *Am J Vet Res*, 66(12): 2114–21. doi: 10.2460/ajvr.2005.66.2114

31.TREIBER K.H., KRONFELD D.S., HESS BYRD TANJA M., BRIDGETT M., SPLAN REBECCA K., STANIAR W.B., 2006, Evaluation of genetic and metabolic predispositions and nutritional risk factors for pasture-associated laminitis in ponies, J Am Vet Med Assoc., 228(10):1538-1545 doi: 10.2460/javma.228.10.1538

32.VENUGOPAL C.S., EADES S., HOLMES E.P., BEADLE R.E., 2011, Insulin resistance in equine digital vessel rings: an in vitro model to study vascular dysfunction in equine laminitis. Equine Vet J., 43(6):744-749. 79. doi: 10.1111/j.2042-3306.2010.00351.x

33.WATSON T.D., PACKARD C.J., SHEPHERD J., 1993, Plasma lipid transport in the horse (*Equus caballus*), Comp Biochem Physiol B., 106(1):27-34 doi: 10.1016/0305-0491(93)90003-n.

34.WOOLDRIDGE A.A., WAGUESPACK R.W., SCHWARTZ D.D., VENUGOPAL C.S., EADES S.C., BEADLE R.E., 2014, Vasorelaxation responses to insulin in laminar vessel rings from healthy, lean horses. Vet J., 202(1):83-88. 80. doi: 10.1016/j.tvjl.2014.07.021

