
Ph.D THESIS

Micronutrient deficiencies in bariatric surgery and dietary supplements development for bariatric patients

Ph.D student: **Assist. Prof. Daniela Mureșan Ciobârcă**

Scientific coordinator: Prof. **Gianina-Cristina Crișan, Ph.D**



UMF

UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CONTENT

INTRODUCTION	17
CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	19
1. Obesity	21
1.1. Definition	21
1.2. Prevalence and future trends	21
1.3. Etiology	21
1.3.1. Genetic and epigenetic factors	22
1.3.2. Environmental factors	22
1.4. Physiological bases for body weight regulation	22
1.5. Pathophysiological changes in obesity	23
1.5.1. Dysregulation of energy balance	25
1.6. Obesity-related comorbidities	25
1.7. Management of obesity	25
2. Bariatric surgery	27
2.1. The most performed bariatric surgery procedures	27
2.1.1. An overview	27
2.1.2. Eligibility	28
2.2. Clinical benefits	29
2.2.1. Weight loss and comorbidities resolution	29
2.3. Mechanisms of action	30
2.3.1. Changes in eating behavior	31
2.3.2. Alterations in gut hormone profile	31
2.3.3. Modifications of gut microbiota	32
2.3.4. Changes in bile acids metabolism	33
2.4. Safety and complications of BS	33
3. Micronutrient deficiencies in bariatric surgery (BS)	35
3.1. Preoperative micronutrient status of BS candidates	35
3.2. Micronutrient status of BS candidates: impact on gut microbiota	36
3.3. Pathogenesis of micronutrient deficiencies after BS	38
3.4. Postoperative prevalence of micronutrient deficiencies and their associated clinical manifestations	40
3.4.1. Iron	40

3.4.2. Vitamin B ₁₂	40
3.4.3. Folic acid	40
3.4.4. Vitamin D and calcium	41
3.4.5. Other micronutrient deficiencies	41
3.4.5.1. Vitamin B ₁ (thiamin)	41
3.4.5.2. Fat soluble vitamins	41
3.4.5.3. Zinc, copper and selenium	41
3.5. Probiotics, implications for bariatric patients	42
PERSONAL CONTRIBUTION	43
1. Objectives	45
2. Study 1. Micronutrient status before and after laparoscopic sleeve gastrectomy: outcomes of a first Romanian evaluation	47
2.1. Introduction	47
2.2. Objectives	48
2.3. Materials and methods	49
2.3.1. Study design and patients	49
2.3.2. Anthropometric, micronutritional and laboratory data collection	49
2.3.3. Surgical technique	50
2.3.4. Statistical analysis	50
2.4. Results	51
2.4.1. Description of patients' characteristics	51
2.4.2. Anthropometric changes from baseline to 6 and 12 months after LSG in all patients' sample	52
2.4.3. Anthropometric changes from baseline to 6 and 12 months after LSG by sex group	52
2.4.4. Changes in hematinic and hematological values from baseline to 6 and 12 months after LSG in all patients' sample	53
2.4.5. Changes in in hematinic and hematological values from baseline to 6 and 12 months after LSG by sex group and initial BMI level	53
2.4.6. Changes in vitamin D-calcium status and PTH values from baseline to 6and 12 months after LSG in all obese patients' sample	59
2.4.7. Changes in vitamin D-calcium status and PTH values from baseline to 6 and 12 months after LSG by sex group and initial BMI level	59
2.4.8. Differences in MNDs over time	59
2.5. Discussion	61
2.6. Conclusions	66
3. Study 2. Influence of type 2 diabetes on the anthropometric indices, body composition, and micronutrient status of patients submitted to laparoscopic sleeve gastrectomy	67
3.1. Introduction	67
3.2. Objectives	68
3.3. Materials and methods	68

3.3.1. Patients and study design	68
3.3.2. Pre- and postoperative assessment	69
3.3.3. Nutritional assessment and counseling	70
3.3.4. Surgical technique	71
3.3.5. Statistical analysis	71
3.4. Results	71
3.5. Discussion	81
3.6. Conclusions	85
4. Study 3. Dietary supplements development for bariatric patients	87
4.1. Introduction	84
4.2. Objectives	89
4.3. Materials and methods	89
4.3.1. Preparing the microencapsulated probiotics powder	89
4.3.1.1. Selection of bacterial strains	89
4.3.1.2. Microbial culture	90
4.3.1.3. Biomass growth and separation	90
4.3.1.4. Biomass microencapsulation	91
4.3.2. Preparing the bilberry extract	91
4.3.3. Preparing the multiple micronutrient, probiotic and bioactive compounds powder	92
4.4. Results	93
4.4.1. The composition of the capsules	93
4.4.2. <i>In vitro</i> quality assessment of capsules	94
4.4.2.1. Organoleptic characteristics	94
4.4.2.2. Physical characteristics	94
4.4.2.3. Uniformity of weight	95
4.4.2.4. Disintegration time	96
4.5. Discussion	96
4.5.1. Micronutrient supplementation and screening after LSG	97
4.5.2. Effectiveness of the postoperative supplementation regimen	98
4.5.2.1. Adherence to the dietary supplementation after LSG	98
4.5.2.2. Efficacy of the dietary supplements	100
4.5.2.3. Efficacy of postoperative supplementation per guidelines	101
4.5.3. Iron	101
4.5.4. Vitamin B ₁₂	104
4.5.5. Folate	107
4.5.6. Vitamin B ₁	109

4.5.7. Vitamin D	109
4.5.8. Vitamins A, E, K	112
4.5.9. Zinc and copper	113
4.5.10. Probiotics	114
4.5.11. Bioactive compounds with prebiotic properties	116
4.6. Conclusions	117
5. General conclusions	119
6. Originality and innovative contributions of the thesis	123
REFERENCES	125

Keywords: micronutrient deficiencies; bariatric surgery; laparoscopic sleeve gastrectomy

INTRODUCTION

Bariatric surgery has proven to be the most effective treatment of clinically severe obesity, leading to sustained weight loss and complete or partial remission of obesity-associated comorbidities. However, weight loss as well as body composition changes following bariatric surgery are highly variable between subjects and may be impacted by certain comorbidities, such as type 2 diabetes. Laparoscopic sleeve gastrectomy (LSG) has become the most performed bariatric intervention worldwide and in Romania as well. Micronutrient deficiencies (MNDs) are commonly reported after bariatric interventions, and LSG is no exception. The most frequently reported MNDs after LSG are for iron (15-45%), vitamin B₁₂ (10-20%), folate (10-20%) and vitamin D (30-70%). According to international guidelines, postoperative supplementation following LSG is compulsory. Standard multivitamins appear to be less effective in preventing MNDs following bariatric surgery compared to customized supplements.

There is ample evidence that gut microbiota can influence host's micronutrient status. This complex interplay between gut microbial community and micronutrients is an emerging field of study and its effects on individuals with severe obesity submitted to LSG has not been investigated yet. However, LSG is associated with major changes in gut microbiota of bariatric patients, which might contribute to the beneficial health outcomes of the surgical treatment. Therefore, administration of probiotics following surgery seems a promising approach to contribute to postoperative gut microbiota restoration that might as well enhance host's micronutrient status. In addition to probiotics, gut microbiota can be also modulated by bioactive compounds from bilberries and goji berries, that have recently emerged as novel prebiotics candidates.

The first main objective of the thesis was to assess the micronutrient profile of patients submitted to LSG at a Romanian metabolic and bariatric surgery center using anthropometric and biochemical measurements to determine pre- and postoperative (12 months) MNDs. Secondly, we aimed to determine whether or not the presence of type 2 diabetes impacts postoperative weight loss, body composition compartments and micronutrient status at 12 months following LSG. Thirdly, based on the results obtained in the first study as well as on clinical research and international guidelines, our aim was to elaborate a customized dietary supplement for which a patent application was filed, consisting of twenty essential vitamins and minerals and a four strain probiotic blend enriched with bioactive compounds from bilberry extract and goji berry powder.

Study 1. Micronutrient status before and after Laparoscopic Sleeve Gastrectomy: outcomes of a first Romanian evaluation

MNDs are redoutable complications associated with both obesity and bariatric interventions, irrespective of their type. Medical reports point out towards frequent vitamins D and B₁₂ as well as iron and folate shortage in patients who undergo LSG. In direct link with iron, low serum ferritin (that reflects the storage of iron) is an indicator of iron deficiency. Of note, anemia reflected by low levels of hemoglobin (Hb) is one of the most frequent complications after BS. Another important deficiency reported both before and after LSG is vitamin D deficiency closely related to low calcium levels and increased parathormone (PTH). Moreover, most MNDs after LSG are independently associated with the preoperative levels of each variable. Hence, the preoperative MNDs should be screened and addressed as they might exacerbate after BS if left untreated. Indeed, LSG is associated with the risk of MNDs onset, making vitamin and mineral supplementation mandatory as indicated by the current guidelines. Still, even when supplemented, patients submitted to LSG can develop micronutrient shortages.

The objectives of this study were: i) to assess if the micronutrient status in severely obese patients changes over time (before and during the first 12 months after LSG, e.g., at 6 and 12 months, respectively) and whether this change depends on sex or initial BMI (defined as BMI \geq 40 kg/m² vs. BMI 35-40 kg/m²) and ii) to investigate if the MNDs differ before and at 12 months after LSG. Also, closely linked to the micronutrient status, we followed the anemia markers, as well as parathyroid hormone, PTH. To the best of our knowledge, this is the first study investigating the nutritional status of BS patients before and after LSG in a Romanian population.

Fifty obese patients underwent LSG and were assessed anthropometrically and nutritionally at baseline and at 6 and 12 months, respectively, after LSG. Vitamin B12 and 25(OH)D did not change, while iron (p=0.0002), calcium (p=0.012), and PTH

($p=0.0002$) increased significantly from baseline to 12 months after LSG. Ferritin decreased significantly from baseline to the 6th month ($p=0.043$) after LSG. Folate increased by the 6th month ($p=0.0004$) and then decreased by the 12th month ($p=0.0012$) after surgery. The presence of anemia was low both before and after LSG. Sex and initial BMI did not have modifying effects on micronutrients levels, except for 25(OH)D that only increased in men (from baseline to the 12th month, $p=0.0004$). No significant changes were found in time regarding MNDs frequency. 25(OH) deficiency frequency was noted to be the highest both before and after LSG and unchanged. Overall, our data indicated that, except for vitamin B12, micronutrient changes were depicted throughout 12 months after LSG. Vitamin D variations seem to depend on sex, as they were noted only in men. The frequency of the MNDs did not change significantly across the study follow-up.

Study 2. Influence of type 2 diabetes on the anthropometric indices, body composition, and micronutrient status of patients submitted to Laparoscopic Sleeve Gastrectomy

The individual response to weight loss after BS is highly variable. Several factors affect weight outcomes, such as baseline BMI, age, sex, preoperative weight loss, eating behavior, tobacco use, substance abuse or the presence of T2D. The latter has been proven to be one of the most important factor that impacts on the likelihood of effectively losing weight following BS. While weight loss is commonly used as an indicator of “success” following BS, the change in the BMI do not mirror the changes in body composition (BC) components, termed fat mass (FM) and fat free mass (FFM). BC improvement after BS entails lowering of FM, particularly the visceral fat compartment, and preservation of FFM.

Micronutrients are important for optimal metabolic function. Evidence from epidemiological studies indicate an association between low levels of circulating 25-hydroxivitamin D and T2D or metabolic syndrome, partly due to increased FM. Other micronutrients commonly deficient in T2D patients are folate and vitamin B₁₂ whose absorption is impaired due to prolonged use of metformin. Despite its effectiveness in terms of weight loss and comorbidities resolution, including T2D, LSG is also associated with the development of MNDs, among which vitamin D, vitamin B₁₂, folates and iron are the most prevalent. Although several studies have investigated the influence of T2D upon weight loss response after LSG, data concerning the impact of T2D on the trajectory of changes in BC as well as in the micronutrient status following BS is scarce.

Our purpose was i) to determine the impact of T2D on postoperative weight loss, ii) to evaluate the effects of T2D status on BC compartments (FM, including

visceral fat, and FFM) and iii) to assess the effects of T2D upon micronutrient status before and at 6 and 12 months after LSG.

The study was conducted on fifty men and women (12 with T2D) that were evaluated preoperatively and at 6 and 12 months following LSG. Patients with T2D lost significantly less weight and visceral fat at 12 months following LSG compared with their counterparts without T2D, despite comparable BMI at baseline. Also, patients with T2D exhibited a significantly higher fat-free mass at the end of the follow-up period (but also lost less weight), although the total fat mass loss did not differ significantly between patients with and without T2D both pre- and postoperatively. 25(OH) D deficiency was present in all patients in baseline and this abnormality persisted throughout the follow-up period, irrespective of T2D status and routine nutritional supplementation; vitamin B₁₂ serum levels were significantly higher (but keeping within the normal range) in the T2D group pre- and post-LSG.

Study 3. Dietary supplements development for bariatric patients

Most MNDs after LSG are independently associated with the preoperative levels of each variable. Obesity is defined as a paradoxical state of malnutrition that can alter patients micronutrient status. Also, obesity is associated with reduced richness and diversity of GM, known as dysbiosis, and a high rate of MNDs. Along with diet and dietary supplements, GM can also contribute to host's micronutrient status, although it is the least explored pathway of acquiring micronutrients. Between GM and micronutrients there is a bidirectional relationship: vitamins and minerals are involved in modulating the diversity and abundance of GM bacterial species, whereas the latter might play a significant part in determining host's micronutrient status. Gut commensals are known for their role in *de novo* biosynthesis of vitamins (most soluble B-vitamins and vitamin K₂). Certain strains of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* also possess metabolic pathways for certain group B vitamins biosynthesis.

Research showed that BS enables a partial reverse of the preoperative dysbiosis, which might contribute to the beneficial health outcomes associated with the surgical treatment. Probiotic supplementation after BS might contribute to enhance or maintain adequate levels of vitamin D and, respectively, vitamin B₁₂. In recent years, studies have paid attention to the role of bioactive compounds from bilberries and goji berries in modulating GM. These substances, known for their potent antioxidant properties, have emerged as novel prebiotics candidates sustaining the proliferation and survival of certain bacterial species, including probiotic and potential probiotic species. In order to prevent MNDs, routine postoperative nutritional supplementation is recommended by current international guidelines. Customized MVS specifically

designed to meet the postoperative nutritional needs of patients submitted to LSG seem to be associated with fewer MNDs compared to standard MVS supplementation.

The objective of our study was to design a dietary supplement, packed with essential vitamins and minerals, a probiotic blend as well as vegetal bioactive compounds from bilberries and goji berries, to help meet the specific nutritional needs of patients submitted to LSG in order to prevent MNDs and to enhance overall MS following surgery by stimulating the rebalance of the intestinal ecosystem. Our customized MVS for patients submitted to LSG consists of 20 vitamins and minerals, a 4 strain probiotic blend as well as bilberry extract and goji berry powder.

Conclusions, originality and innovative contributions of the thesis

LSG is currently the most performed bariatric intervention worldwide and also in Romania. MNDs prevention after BS is one of the main long-term postoperative concerns in bariatric patients. In our patients sample, we depicted significant changes in micronutrient status during 12 months after LSG, except for vitamin B₁₂. Vitamin D increased significantly in men, whereas other micronutritional variations do not seem to depend on sex and initial BMI. The frequency of the MNDs did not change significantly 1 year after LSG (it was highest with regard to vitamin D). T2D negatively impacts both postoperative weight loss and body composition parameters, but it does not seem to significantly influence micronutrient status, except for vitamin B₁₂. Customized MVS specifically designed to meet the postoperative nutritional needs of patients submitted to LSG seem to be associated with fewer MNDs compared to standard MVS supplementation. Manipulation of GM through probiotics and bioactive compounds with prebiotic properties represents a promising therapeutic approach in bariatric patients that might enhance postoperative micronutrient status by stimulating GM restoration.

This thesis makes a significant contribution toward a better understanding of the micronutrient profile of Romanian patients with severe obesity that underwent LSG. The results of this research work might be of importance for the scientific community, clinicians and patients as well. First of all, this thesis paves the way for the development of national clinical guidelines for bariatric patients. By proposing an innovative dietary supplementation formula aimed at improving the micronutrient status through modulation of gut microbiota, our work is one step forward to an emerging line of research, respectively the complex interactions between gut microbiota and host's micronutrient profile. In healthcare setting the results of this research might be easily integrated into clinical care for improving nutritional management of patients before and after LSG, particularly in the absence of national guidelines. Not least, the benefits of this research apply as well to bariatric patients who might benefit from the customized dietary supplement to improve their postoperative micronutrient status.

TEZĂ DE DOCTORAT

Identificarea deficitelor
nutriționale și obținerea de
suplimente la pacienții obezi
supuși chirurgiei bariatrice

Doctorand: **Asist. univ. Daniela Mureșan Ciobârcă**

Conducător de doctorat: **Prof. dr. Gianina-Cristina Crișan**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	17
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	19
1. Obezitatea	21
1.1. Definiție	21
1.2. Prevalență și tendințe evolutive	21
1.3. Etiologie	21
1.3.1. Factori genetici și epigenetici	22
1.3.2. Factori de mediu	22
1.4. Bazele fiziologice ale reglării greutateii corporale	22
1.5. Modificări fiziopatologice în obezitate	23
1.5.1. Balanța energetică	25
1.6. Comorbidități	25
1.7. Managementul obezității	25
2. Chirurgia bariatrică	27
2.1. Cele mai frecvente tipuri de intervenții bariatrice	27
2.1.1. Aspecte generale	27
2.1.2. Criterii de eligibilitate	28
2.2. Beneficii clinice	29
2.2.1. Reducerea ponderală și ameliorarea/rezoluția comorbidităților	29
2.3. Mecanisme de acțiune	30
2.3.1. Modificări ale comportamentului alimentar	31
2.3.2. Modificări ale profilului hormonal	31
2.3.3. Modificări la nivelul microbiotei intestinale	32
2.3.4. Modificări în metabolismul acizilor biliari	33
2.4. Riscurile și complicațiile chirurgiei bariatrice	33
3. Deficitele nutriționale după chirurgia bariatrică (CB)	35
3.1. Statusul de micronutrienți preoperator al pacienților cu obezitate	35
3.2. Statusul de micronutrienți preoperator și microbiota intestinală	36
3.3. Mecanisme incriminate în apariția deficitelor nutriționale după CB	38
3.4. Prevalența postoperatorie a deficitelor nutriționale și manifestările clinice ale acestora	40
3.4.1. Fierul	40
3.4.2. Vitamina B ₁₂	40
3.4.3. Acidul folic	40

3.4.4. Vitamina D and calciul	41
3.4.5. Alte deficite nutriționale	41
3.4.5.1. Vitamina B ₁ (thiamina)	41
3.4.5.2. Vitamine liposolubile	41
3.4.5.3. Zincul, cuprul și seleniul	41
3.5. Probioticele, implicații pentru pacienții bariatrici	42
CONTRIBUȚIE PERSONALĂ	43
1. Obiective	45
2. Studiul 1. Statusul de micronutrienți înainte și după sleeve gastrectomia laparoscopică: rezultate ale unei prime evaluări în România	47
2.1. Introducere	47
2.2. Obiective	48
2.3. Materiale și metode	49
2.3.1. Design-ul studiului	49
2.3.2. Măsurători antropometrice și de laborator	49
2.3.3. Tehnica chirurgicală	50
2.3.4. Analiza statistică	50
2.4. Rezultate	51
2.4.1. Caracteristicile pacienților	51
2.4.2. Modificări antropometrice la 6 and 12 luni postoperator în întreg lotul de pacienți	52
2.4.3. Modificări antropometrice la 6 and 12 luni postoperator în funcție de sex	52
2.4.4. Modificări hematologice la 6 and 12 luni postoperator în întreg lotul de pacienți	53
2.4.5. Modificări hematologice la 6 and 12 luni postoperator în funcție de sex și nivelul inițial al IMC	53
2.4.6. Modificări ale valorilor vitaminei D, calciului și PTH-ului la 6 and 12 luni postoperator în întreg lotul de pacienți	59
2.4.7. Modificări ale valorilor vitaminei D, calciului și PTH-ului la 6 and 12 luni postoperator în funcție de sex și nivelul inițial al IMC	59
2.4.8. Evoluția deficitelor nutriționale de-a lungul perioadei de urmărire	59
2.5. Discuții	61
2.6. Concluzii	66
3. Studiul 2. Influența diabetului zaharat de tip 2 asupra parametrilor antropometrici, compoziției corporale și profilului de micronutrienți la pacienții supuși sleeve gastrectomiei laparoscopice	67
3.1. Introducere	67
3.2. Obiective	68
3.3. Materiale and metode	68

3.3.1. Design-ul studiului și caracteristicile pacienților	68
3.3.2. Evaluarea pre- și postoperatorie	69
3.3.3. Evaluarea și consilierea nutrițională	70
3.3.4. Tehnica chirurgicală	71
3.3.5. Analiza statistică	71
3.4. Rezultate	71
3.5. Discuții	81
3.6. Concluzii	85
4. Studiul 3. Obținerea de suplimente nutriționale pentru pacienții bariatrici	87
4.1. Introducere	84
4.2. Obiective	89
4.3. Materiale și metode	89
4.3.1. Prepararea pudrei de probiotice microîncapsulate	89
4.3.1.1. Selecția tulpinilor probiotice	89
4.3.1.2. Cultivarea tulpinilor probiotice	90
4.3.1.3. Creșterea și separarea biomasei	90
4.3.1.4. Microîncapsularea	91
4.3.2. Prepararea extractului de fructe de afin sălbatic	91
4.3.3. Obținerea amestecului final de micronutrienți, probiotice și compuși vegetali	92
4.4. Rezultate	93
4.4.1. Compoziția capsulelor	93
4.4.2. Evaluarea <i>in vitro</i> a calității capsulelor	94
4.4.2.1. Caracteristici organoleptice	94
4.4.2.2. Caracteristici fizice	94
4.4.2.3. Uniformitatea masei	95
4.4.2.4. Timpul de dezagregare	96
4.5. Discuții	96
4.5.1. Recomandări de suplimentare nutrițională și screening pentru deficite nutriționale după sleeve gastrectomie	97
4.5.2. Eficiența suplimentării nutriționale postoperatorii	98
4.5.2.1. Aderența la suplimentarea nutrițională postoperatorie	98
4.5.2.2. Eficiența suplimentelor nutriționale	100
4.5.2.3. Eficiența suplimentării nutriționale postoperatorii conform recomandărilor ghidurilor de specialitate	101
4.5.3. Fierul	101
4.5.4. Vitamina B ₁₂	104
4.5.5. Folații	107

4.5.6. Vitamina B ₁	109
4.5.7. Vitamina D	109
4.5.8. Vitaminele A, E, K	112
4.5.9. Zincul și cuprul	113
4.5.10. Probioticele	114
4.5.11. Compuși vegetali cu proprietăți prebiotice	116
4.6. Concluzii	117
5. Concluzii generale	119
6. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	123
REFERINȚE	125

Cuvinte cheie: deficite nutriționale; chirurgie bariatrică; sleeve gastrectomie laparoscopică

INTRODUCERE

Chirurgia bariatrică reprezintă cel mai eficient tratament al obezității severe, ducând la o reducere ponderală susținută și la remiterea parțială sau totală a comorbidităților. Totuși, pierderea în greutate și modificările compoziției corporale consecutive intervențiilor bariatrice prezintă o mare variabilitate interindividuală, putând fi influențate de prezența unor afecțiuni, cum ar fi diabetul zaharat de tip 2 (DZ2). Sleeve gastrectomia laparoscopică (SGL) a devenit cea mai frecvent utilizată tehnică bariatrică atât în lume, cât și în țara noastră. Deficitele nutriționale (DN) reprezintă una dintre complicațiile redutabile ale intervențiilor bariatrice, indiferent de tipul acestora. Principalele carențe nutriționale depistate după SGL sunt de fier (15-45%), vitamina B₁₂ (10-20%), acid folic (10-20%) și vitamina D (30-70%). Potrivit ghidurilor de specialitate internaționale, suplimentarea nutrițională după SGL este obligatorie. Studii recente au arătat că administrarea de preparate comerciale (multivitamine) s-a dovedit a fi mai puțin eficientă pentru corectarea DN postoperatorii comparativ cu suplimentarea cu produse special concepute pentru nevoile nutriționale ale pacienților bariatrici.

În literatura de specialitate există dovezi consistente cu privire la o relație bidirecțională între microbiota intestinală (MI) și micronutrienți. Efectele interacțiunilor dintre MI și micronutrienți nu au fost, până la ora actuală, investigate la indivizii cu obezitate severă supuși SGL. Pe de altă parte, SGL induce modificări substanțiale la nivelul MI, stimulând refacerea parțială a echilibrului bacterian intestinal afectat de obezitate. Mai mult, se presupune că modificarea postoperatorie a compoziției MI ar putea avea o contribuție în ameliorarea statusului ponderal și a comorbidităților observate după tratamentul chirurgical. Întrucât SGL contribuie doar parțial la redobândirea echilibrului bacterian intestinal, administrarea de probiotice în

perioada postoperatorie pare o abordare promițătoare pentru refacerea MI la pacienții bariatrici. Pe lângă probiotice, MI este modulată și de alte substanțe, cum ar fi compușii bioactivi din afine și fructe de goji, care dețin și proprietăți prebiotice.

Primul obiectiv al tezei a constat în evaluarea profilului de micronutrienți pre- și postoperator (6 și 12 luni) al unui lot de pacienți din România, supuși SGL în cadrul Ponderas Academic Hospital București. În al doilea rând, ne-am propus să investigăm dacă prezența DZZ influențează pierderea în greutate, compoziția corporală și statusul micronutrienților la 6 și 12 luni după SGL. Al treilea obiectiv major a constat în conceperea, pe baza observațiilor desprinse din primul studiu, precum și a datelor din literatură, a unei formule unice de suplimentare nutrițională, constând dintr-un amestec de vitamine, minerale, probiotice și compuși bioactivi de origine vegetală. Suplimentul, pentru care s-a depus o cerere de brevet, a fost conceput pentru a preveni exacerbarea DN preexistente sau apariția *de novo* a acestora după intervenția de SGL, în condițiile stimulării refacerii echilibrului bacterian intestinal.

Studiul 1. Statusul de micronutrienți înainte și după sleeve gastrectomia laparoscopică: rezultate ale unei prime evaluări în România

DN sunt asociate atât cu obezitatea, cât și cu tratamentul chirurgical bariatric. Cel mai frecvent raportate carențe nutriționale după SGL sunt de vitamina D și B₁₂, fier și foliați. Reducerea nivelului de feritină serică (implicată în stocarea fierului) este un indicator al deficitului de fier. Anemia determinată de scăderea nivelului de hemoglobină este una dintre cele mai frecvente complicații după chirurgia bariatrică. Carența de vitamina D este, de asemenea, frecvent raportată raportată atât pre-, cât și postoperator, fiind asociată cu niveluri scăzute de calciu și creșterea concentrației de parathormon (PTH). În ciuda suplimentării nutriționale postoperatorii, DN tind să persiste postoperator (cele preexistente) sau să se dezvolte *de novo* după SGL. Obiectivele acestui studiu au fost: i) să evalueze dacă statusul de micronutrienți la pacienții cu obezitate severă se modifică în timp (înainte și pe durata primelor 12 luni după SGL, de exemplu, la 6 și, respectiv, 12 luni) și dacă această modificare depinde de sex sau IMC-ul inițial (definit ca IMC \geq 40 kg/m² față de IMC 35-40 kg/m²) și ii) să investigheze dacă frecvența DN se modifică la 12 luni după SGL. Din câte cunoaștem, acesta este primul studiu care investighează în mod complex statusul de micronutrienți al unui lot de pacienți din România cu obezitate severă, înainte și după SGL.

Cincizeci de pacienți cu obezitate supuși SGL au fost evaluați antropometric și nutrițional preoperator și la 6 și, respectiv, 12 luni după intervenție. Nivelurile vitaminei B₁₂ și vitaminei D [25(OH)D] nu s-au modificat, în timp ce concentrația plasmatică a sideremiei (p=0,0002), a calciului (p=0,012) și a PTH (p=0,0002) au crescut semnificativ de la momentul preoperator la 12 luni după SGL. Feritina a scăzut semnificativ de la momentul inițial până în luna a 6-a (p=0,043) după SGL. Nivelurile

de acid folic au crescut inițial (luna a 6-a) ($p=0,0004$) pentru ca apoi să scadă la finalul perioadei de urmărire (luna a 12-a) ($p=0,0012$). Prezența anemiei a fost scăzută atât înainte, cât și după SGL. Sexul și IMC-ul inițial nu au influențat statusul de micronutrienți, cu excepția 25(OH)D care a crescut doar la bărbați (de la momentul inițial până în luna a 12-a, $p=0,0004$). Comparativ cu momentul preoperator, nu au fost identificate modificări semnificative cu privire la frecvența DN la 12 luni după SGL. Cel mai important și persistent DN a fost cel de 25(OH)D. Nivelurile de micronutrienți au suferit modificări la 12 luni după SGL, cu excepția vitaminei B₁₂. Variațiile nivelurilor de vitamina D par să depindă de sex, deoarece au fost raportate numai la bărbați. Frecvența DN nu s-a modificat semnificativ de-a lungul perioadei de urmărire.

Studiul 2. Influența diabetului zaharat tip 2 asupra indicilor antropometrici, compoziției corporale și profilului de micronutrienți la pacienții supuși sleeve gastrectomiei laparoscopice

Reducerea ponderală după chirurgia bariatrică se caracterizează printr-o marcată varietate interindividuală, fiind influențată de o serie de factori, între care și prezența DZ2. Deși reducerea ponderală postoperatorie reprezintă un marker al „succesului” după chirurgia bariatrică, modificarea IMC nu reflectă modificările componentelor compoziției corporale (CC), respectiv masa grasă (FM) și masa slabă (FFM). Ameliorarea CC după intervențiile bariatrice presupune reducerea nivelului de FM, în special a grăsimii viscerale, și menținerea pe cât posibil a FFM. Micronutrienții au un rol important în asigurarea unei status metabolic optim. La pacienții cu DZ2 au fost raportate o serie de carențe nutriționale, de exemplu de 25(OH)D, folați sau vitamină B₁₂. Studiile epidemiologice au indicat o asociere pozitivă între nivelurile scăzute de 25(OH)D și prezența DZ2 sau a sindromului metabolic, în parte datorită creșterii FM. Absorbția folaților și a vitaminei B₁₂ poate fi afectată la pacienții cu DZ2 datorită tratamentului cu metformin. La rândul său, SGL este, de asemenea, asociat cu dezvoltarea de DN, cele mai frecvente fiind cele de vitamina D, vitamina B₁₂, folați și de fier. Dacă influența DZ2 asupra reducerii ponderale după SGL a fost investigată de câteva studii, datele cu privire la efectele DZ2 asupra parametrilor CC, precum și asupra statusului de micronutrienți sunt extrem de limitate. Obiectivele acestui studiu au fost de a determina dacă prezența DZ2 este sau nu asociată cu o pierdere semnificativ mai mică în greutate după intervenția SGL și de a evalua impactul DZ2 asupra CC și a profilului de micronutrienți în rândul pacienților supuși SGL.

Studiul a fost realizat pe 50 de bărbați și femei (din care 12 au fost diagnosticați cu DZ2 preoperator) care au fost evaluați preoperator și la 6, respectiv 12 luni, după SGL. Pacienții cu DZ2 au înregistrat o reducere ponderală semnificativ mai mică și au pierdut mai puțină grăsime viscerală la 12 luni după SGL în comparație cu pacienții fără DZ2, în ciuda unui IMC comparabil preoperator. De asemenea, nivelul masei slabe a fost semnificativ mai mare la sfârșitul perioadei de urmărire în rândul pacienților cu

DZ2 față de cei fără DZ2. Nivelul masei grase nu a diferit în mod semnificativ între pacienții cu și fără DZ2 nici înainte, nici după intervenția de SGL. Deficitul de 25(OH)D a fost prezent la toți pacienții preoperator, această carență persistând pe toată perioada de urmărire, indiferent de prezența DZ2 și în ciuda suplimentării nutriționale; nivelurile serice ale vitaminei B₁₂ au fost semnificativ mai mari (dar în limitele intervalului de referință) în grupul pacienților cu DZ2 atât pre-, cât și postoperator. În concluzie, DZ2 este asociat cu efecte negative în ceea ce privește reducerea ponderală și ameliorarea compoziției corporale după SGL. Cu excepția vitaminei B₁₂, nivelurile micronutrienților investigați au fost comparabile între cele două grupuri de pacienți.

Studiul 3. Obținerea de suplimente nutriționale pentru pacienții bariatrici

Un important factor etiologic în apariția DN postoperatorii îl reprezintă eventualele carențe preoperatorii, știut fiind faptul că obezitatea este o formă de malnutriție care poate altera statusul de micronutrienți al pacientului. În plus, excesul de greutate se poate însoți de un dezechilibru la nivelul MI, denumit disbioză. Pe lângă de dietă și suplimente alimentare, MI reprezintă cea mai puțin exploatată sursă de micronutrienți a organismului. Între MI și micronutrienți există o relație bidirecțională: MI sintetizează micronutrienți, în vreme ce aceștia din urmă modulează diversitatea și abundența populațiilor bacteriene de la nivel intestinal. Speciile comensale joacă un rol semnificativ în biosinteza *de novo* a unor vitamine (vitamine din grupul B și vitamina K₂). Din acest punct de vedere, sunt de interes și anumite tulpini aparținând genurilor *Bifidobacterium* și *Lactobacillus*, care, în același timp, sunt utilizate și ca bacterii probiotice. Compoziția MI a pacienților cu obezitate supuși CB suferă modificări semnificative postoperator, facilitând remiterea parțială a disbiozei preoperatorii cu posibile implicații asupra reducerii ponderale, statusului metabolic și statusului de micronutrienți. În plus, s-a arătat că suplimentarea postoperatorie cu anumite specii probiotice după intervențiile bariatrice ar putea contribui la creșterea sau menținerea nivelurilor adecvate de vitamina D și, respectiv, de vitamina B₁₂. În ultimii ani, studiile au acordat atenție și rolului compușilor bioactivi din afine și fructe de goji în modularea MI. Aceste substanțe, cunoscute pentru proprietățile lor antioxidante puternice, prezintă importante proprietăți prebiotice, susținând proliferarea anumitor specii bacteriene benefice, cum ar fi cele probiotice și potențial probiotice.

Potrivit ghidurilor de specialitate actuale, suplimentarea nutrițională este obligatorie după SGL. Studii mai recente au arătat că prevalența DN postoperatorii este mai redusă în urma suplimentării cu formule nutriționale special concepute pentru a acoperi nevoile pacienților bariatrici comparativ cu cele comerciale. Obiectivul prezentului studiu a fost de a elabora un supliment nutrițional constând într-o

combinație de vitamine, minerale, probiotice microîncapsulate și compuși biologic activi de origine vegetală, realizat sub formă de capsule și conceput pentru a preveni apariția *de novo* a DN sau agravarea celor existente preoperator în rândul pacienților cu obezitate supuși intervenției de SGL, prin stimularea refacerii echilibrului microbial intestinal. Suplimentul realizat conține o combinație de 20 vitamine și minerale, 4 tulpini probiotice, extract de afin sălbatic și pudră de goji.

Concluzii, originalitate și contribuții inovative ale tezei

La momentul actual, SGL este cea mai utilizată tehnică bariatrică atât la nivel mondial, cât și în România. DN de vitamine și minerale se numără printre complicațiile redutabile ale SGL, iar prevenirea acestora reprezintă una dintre preocupările postoperatorii majore pe termen lung. În lotul de pacienți luat în studiu, am constatat modificări semnificative ale statusului de micronutrienți de-a lungul perioadei de urmărire (12 luni după SGL), cu excepția vitaminei B₁₂. Nivelurile vitaminei D au crescut semnificativ la bărbați, însă concentrațiile altor micronutrienți studiați nu au fost influențate de sex sau valoarea inițială a IMC. Frecvența DN nu s-a modificat semnificativ la un an după SGL. Prezența DZ2 afectează atât reducerea ponderală postoperatorie, cât și parametrii compoziției corporale, însă nu influențează semnificativ statusul de micronutrienți, cu excepția vitaminei B₁₂. Prevalența DN postoperatorii este mai redusă în urma administrării de suplimente nutriționale concepute special pentru pacienții bariatrici. Modularea MI prin intermediul probioticelor și compușilor biologic activi de origine vegetală reprezintă o abordare promițătoare pentru stimularea refacerii echilibrului microbial intestinal după intervențiile bariatrice și ameliorarea statusului de micronutrienți.

Prezenta teză aduce o contribuție substanțială în ceea ce privește cunoașterea statusului de micronutrienți al pacienților cu obezitate severă din România supuși SGL. Rezultatele acestui proiect de cercetare prezintă importanță pentru comunitatea științifică, pentru practicieni, dar și pentru pacienți. În primul rând, această teză reprezintă un punct de pornire pentru elaborarea unui ghid național de îngrijiri perioperatorii nonchirurgicale ale pacientului bariatric. Prin conceperea unei formule de suplimentare nutrițională originală, această teză contribuie la dezvoltarea unei direcții de cercetare emergente, respectiv interacțiunile dintre MI și statusul de micronutrienți la pacientul bariatric. Rezultatele cercetării pot fi, de asemenea, integrate cu ușurință în practica clinică în vederea ameliorării managementului nutrițional al pacienților pre- și postoperator, în special în absența unor ghiduri naționale. Nu în ultimul rând, și pacienții bariatrici pot beneficia de rezultatele prezentei cercetări concretizate în dezvoltarea unui supliment nutrițional inovativ, conceput special pentru ameliorarea statusului de micronutrienți după SGL prin stimularea refacerii echilibrului microbial intestinal.