

**DEZVOLTAREA UNUI SISTEM DE
DIAGNOSTICARE AL PSEUDOPUBERTĂȚII
PRECOCE LA ȘOBOLANI INDUSĂ DE EXPUNEREA
LA LUMINA ALBASTRĂ**

Raluca Maria Pop, Gherman Luciana-Mădălina, Mogosan Emilia-Laura,
Danku Alex, Lorenzovici Noemi, Timis Daniel

Pubertatea precoce (PP) reprezintă dezvoltarea caracterelor sexuale secundare, înainte de vârsta de 8 ani la fete, respectiv 9 ani la băieți.

Pubertatea precoce:

- PP centrală - maturarea prematură a axei hipotalamo-hipofizo-gonadal, dependentă de gonadotropină (centrală/adevărată) și
- PP periferică - secreția excesivă a hormonilor sexuali, fiind independentă de secreția de gonadotropină (periferică/**pseudopubertate**)

La nivel global, studiile epidemiologice au arătat că numărul copiilor diagnosticați cu pubertate precoce a crescut semnificativ (Han, 2022)

Incidența generală a PP este estimată la 1:5.000 până la 1:10.000 de copii, fetele predominând comparativ cu băieții (raport 10:1) (Partsch, 2001).

CONTEXT

PP afectează în mod **negativ** sănătatea fizică și psihică a copiilor

- PP crește riscul de apariție a **hipertensiunii arteriale, diabetului, obezității și infertilității** la vârsta adultă (Han, 2022)
- PP crește riscul accelerării **maturizării scheletice** (în mod special la fete), **debutului sexual** precoce, **potențialului de abuz sexual** și **dificultăților psihico-sociale** (Lee, 2016).
- PP crește riscul de dezvoltare a **diferitelor tipuri de cancer** (de sân - în cazul fetelor și cancer testicular - în cazul băieților) precum și a dezvoltării **bolilor cardiovasculare** la vârsta adultă (Lee, 2016).
- **Tulburările mentale** asociate PP sunt reprezentate de **depresie, anxietate, tulburări de alimentație** precum și tulburări legate de **consumul diferitelor substanțe** (Lee, 2016).



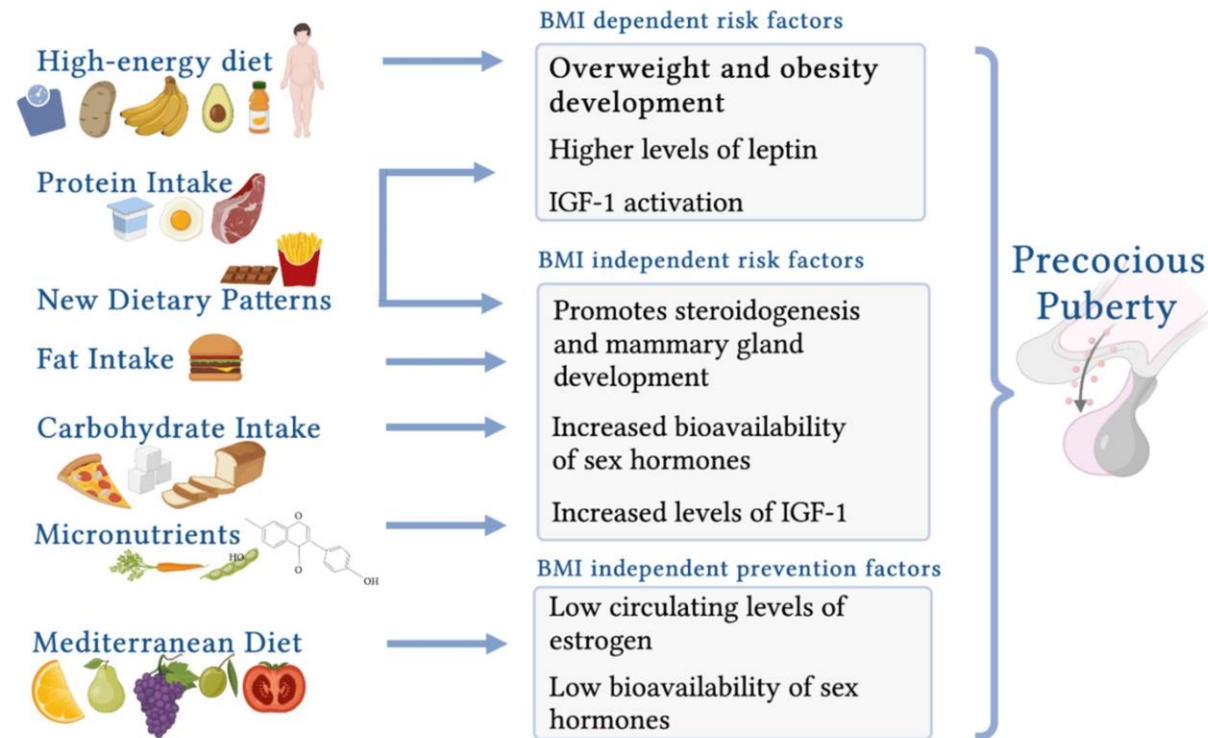
(Calcaterra et al., 2021)

CONTEXT - Factori favorizanți în instalarea PP

➤ Studiile actuale au demonstrat că pubertatea se instalează mult mai devreme, din cauza **condițiilor actuale de mediu**, acestea jucând un rol important în acest proces.

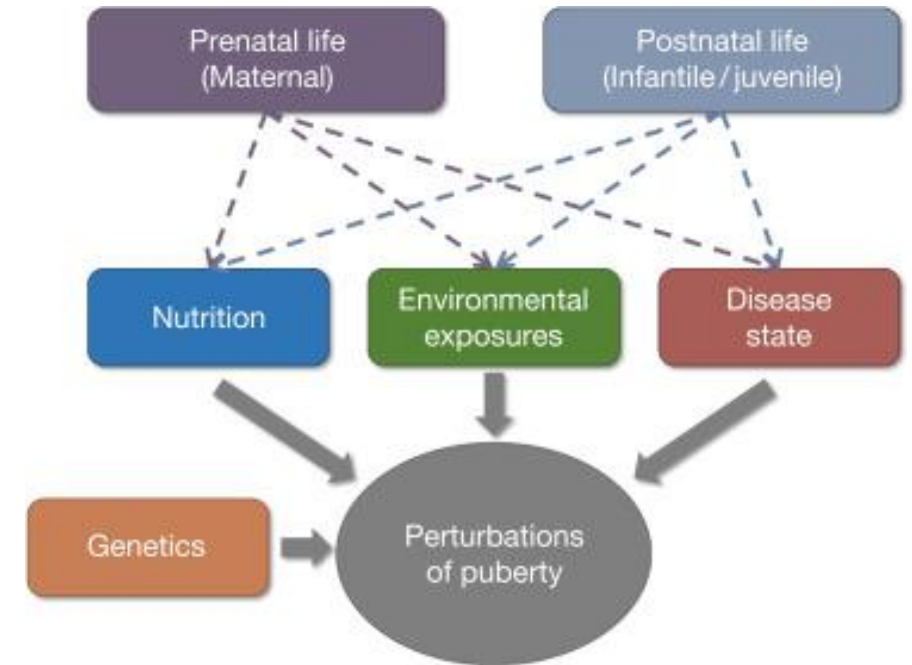
➤ S-a observat că **rata obezității** a crescut cu mai mult de 2 ori la copii și adolescenți, **în paralel cu creșterea pubertății precoce** centrale (Liu, 2021).

➤ **aportul crescut de calorii** cât și mîncarea de tip „**fast-food**” (Calcaterra et al. 2021) asociată cu **scăderea exercițiilor fizice** și **creșterea timpului de expunere** la diferite **device-uri**, sunt asociate în mod clar cu obezitatea (Itani, 2022).



CONTEXT - Factori favorizanți în instalarea PP

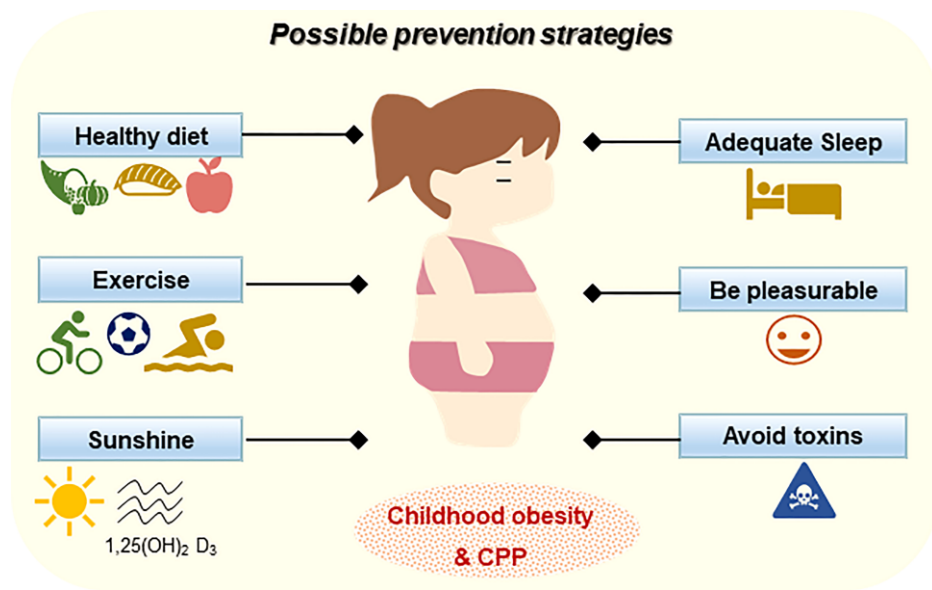
- Cel mai reprezentativ exemplu este **carantina la domiciliu** din timpul **pandemiei** globale de coronavirus din anul 2019 (COVID-19) care a avut un **impact semnificativ** asupra copiilor.
- Pe toată durata acestei perioade, stilul de viață al fiecărei persoane s-a modificat drastic, dominând **sedentarismul**, modificări ale **ciclului circadian**, **alimentația necorespunzătoare** precum și **utilizarea în mod excesiv** a diferitelor tipuri de device-uri (**telefon, tabletă, TV**).
- În urma acestor schimbări a rezultat o **creștere** a numărului de cazuri **de obezitate** la nivelul populației, în toate categoriile de vârstă și **dezvoltarea pubertății precoce evidențiată** la copii cu vârste fragede.



(Williams et al., 2018)

CONTEXT - Factori favorizanți în instalarea PP

- De asemenea, se cunoaște faptul că **lipsa somnului** la copii este **asociată cu creșterea în greutate** (Alkureishi, 2023).
- De aceea este foarte important ca toți acești factori ce ar putea induce PP să fie studiați pentru a putea fi fundamentate din punct de vedere științific în vederea **luării de măsuri preventive**

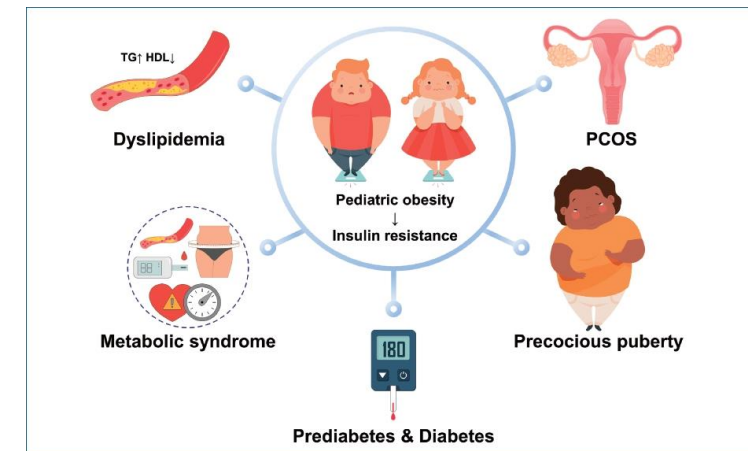


(Shi et al., 2022)



IPOTEZE

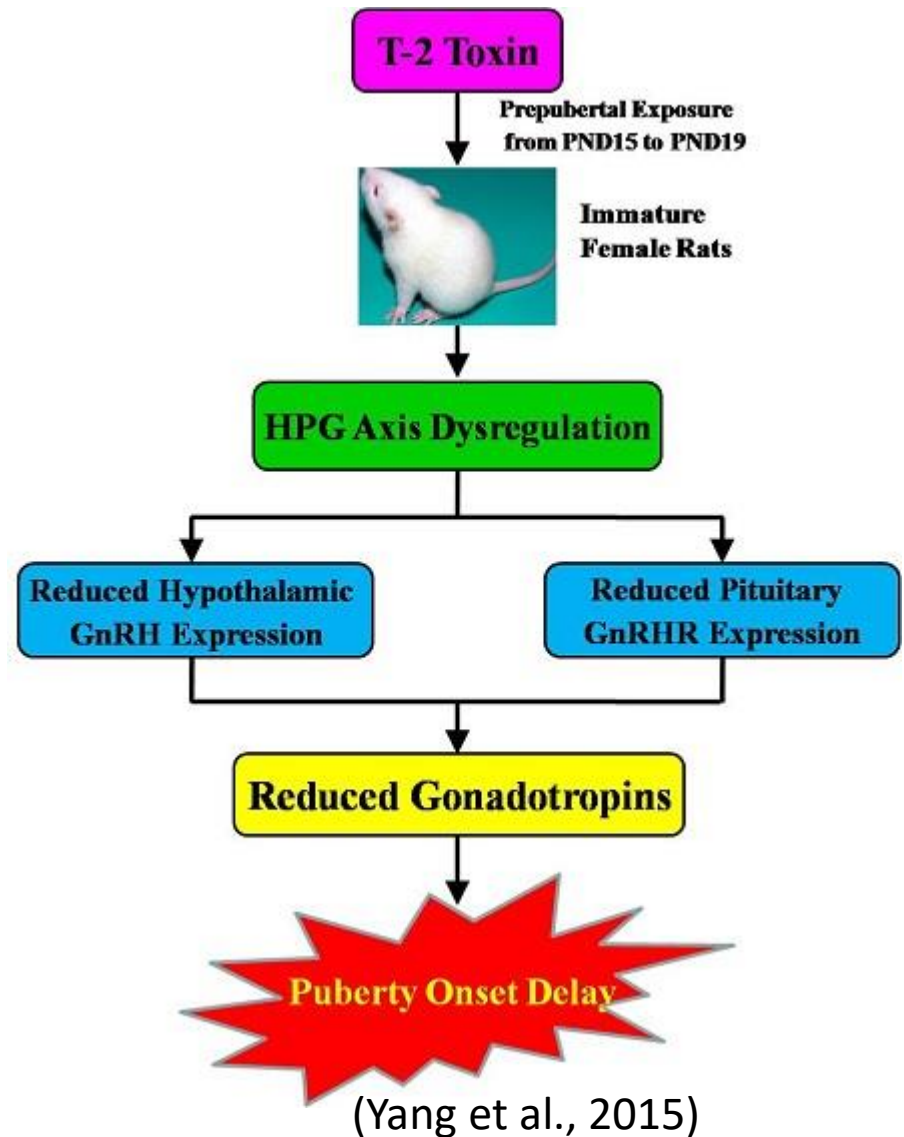
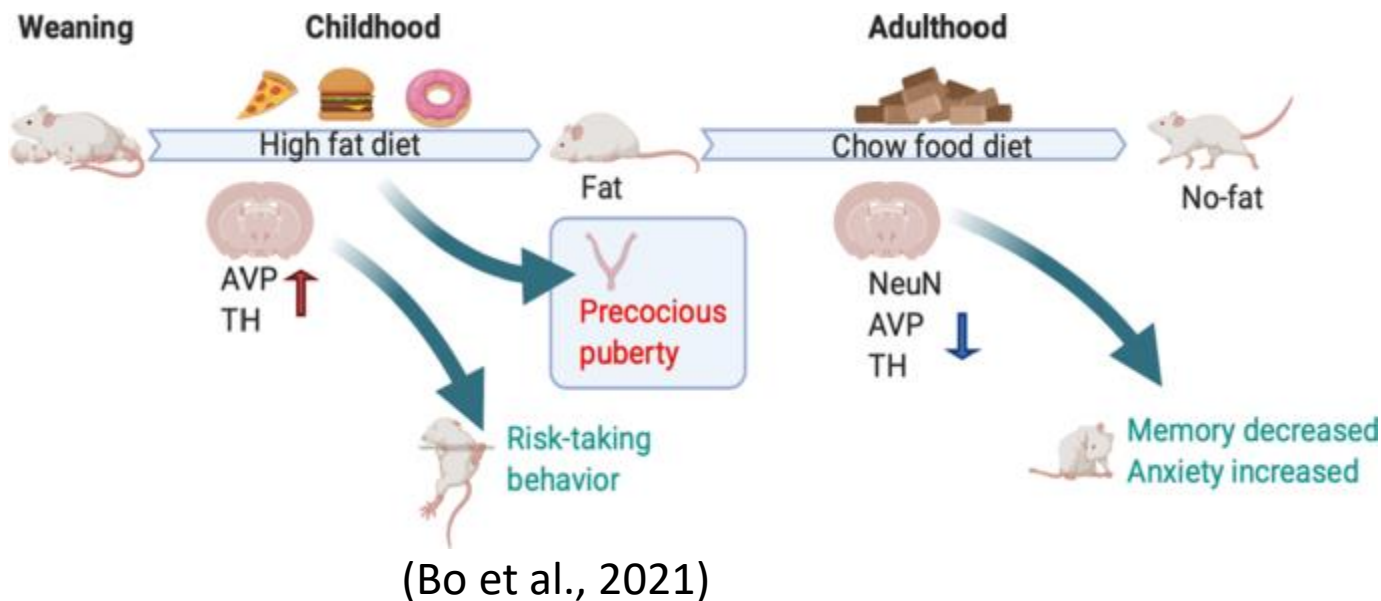
- La ora actuala s-au emis foarte multe ipoteze legate de **influenta nociva** pe care o are **expunerea indelungata a copiilor la lumina diferitelor tipuri de ecrane** (tablete, telefoane, calculatoare) dar fara a fi studiate suficient
- Cu toate acestea, există **puține studii** care deja au arătat că timpul petrecut în fața diferitelor tipuri de ecrane (timpul petrecut uitându-se la televizor, jucând jocuri video/pe computer și navigând pe internet) reprezintă cel mai frecvent tip de comportament sedentar (Lee, 2016).



(Lee et al., 2021)

CE ESTE DE FĂCUT?

- Identificarea factorilor predictivi precum efectul expunerii la diferite tipuri de ecrane în inducerea PP reprezintă o prioritate esențială asupra sănătății publice.
- O abordare eficientă și sigură este reprezentată de identificarea principalilor factori de risc, prin efectuarea studiilor *in vitro*.



Stilul de viață modern se caracterizează prin expunerea constantă la lumina artificială, care este asociată cu alterări ale ritmurilor biologice, cu pubertatea precoce cât și cu modificări metabolice.

Acest studiu își propune:

- să **identifice mecanismul de inducere a pubertății precoce și legătura dintre aceasta și**
- să **identifice modificările ce au loc la nivel metabolic în condițiile expunerii la lumina albastră**

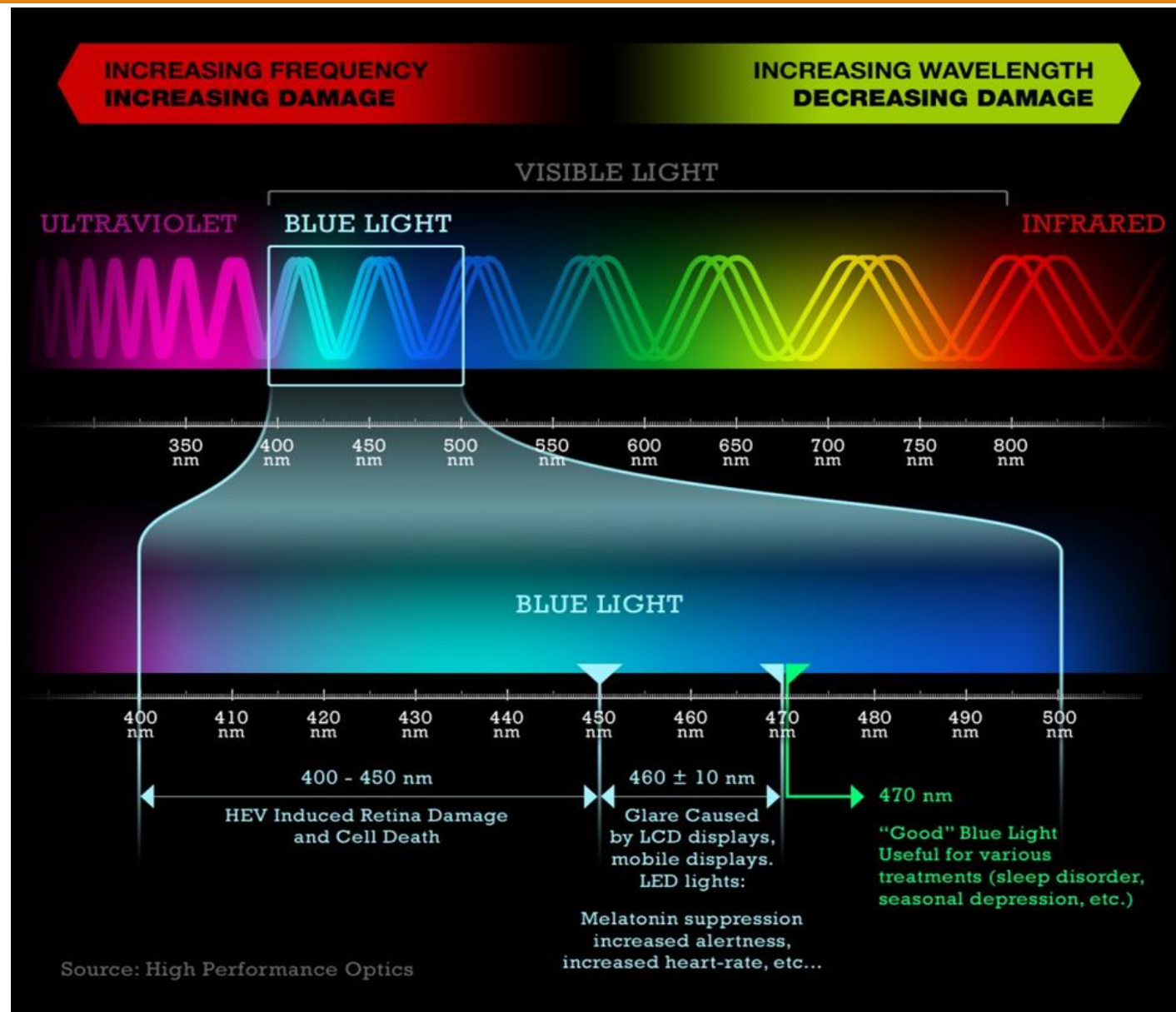
Expunerea la lumina albastră determină inducerea precoce a pubertății printr-o serie de modificări:

- **la nivel fizic** - greutate corporală
 - deschidere vaginală
 - evoluția țesutului glandular mamar
 - dimensiunii testiculare

- **la nivel metabolic** - modificarea profilului lipidic
 - modificarea metabolismului glucidic
 - modificarea markerilor de inflamație și stress oxidativ cu potențial în inducerea bolilor asociate

- Evaluarea **efectului expunerii** la trei surse diferite de **lumină albastră** (**led, telefon, monitor PC**) făcând trimitere la momentul **instalării pubertății precoce** și la posibilele **modificări metabolice** identificate la șobolani,
- **Dezvoltarea unui algoritm de învățare automată** care clasifică în mod automat etapele ciclului estral și ajută la **integrarea și interpretarea datele** obținute pentru a optimiza fluxul de lucru în managementul și interpretarea rezultatelor de laborator.

SURSE LUMINĂ ALBASTRĂ



1. **Evaluarea instalării pseudopubertății** precoce la șobolanii cu vârsta de 21 de zile, în urma expunerii la lumina albastră prin **monitorizarea modificărilor clinice evidente:**
 - greutatea corporală
 - cuantificarea deschiderii vaginale
 - evoluția dimensiunii țesutului glandular mamar în cazul femelelor
 - măsurarea dimensiunii testiculare în cazul masculilor

2. **Evaluarea instalării pseudopubertății** precoce în urma expunerii la lumina albastră prin evaluarea
- **ritmului circadian** cu determinarea nivelului de melatonină și cortizol
 - **metabolismului lipidic** cu determinarea nivelului seric de leptină, colesterol, lipoproteine de înaltă densitate (HDL), lipoproteine cu densitate joasă (LDL), trigliceride
 - **metabolismului glucidic** cu determinarea nivelului seric de glucoză, insulină
 - **funcției hepatice** cu determinarea nivelului seric de AST, ALT, gama-glutamyltransferază (γ -GT), fosfatază alcalină
 - **statusul inflamației generale** (CRP).

OBIECTIVE SPECIFICE

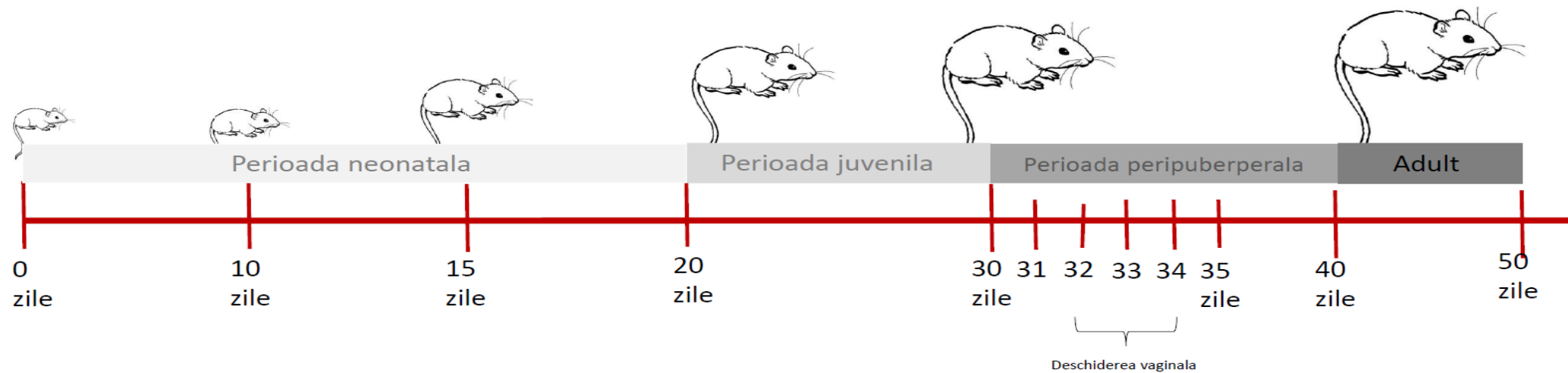
3. Evaluarea efectului expunerii la lumina albastră prin surprinderea instalării pubertății precoce identificat prin **recoltarea seriată a secrețiilor de la nivel vaginal**.
4. **Evaluarea comparativă** a inducerii pseudopubertății precoce în urma expunerii la lumina albastră la **femele vs masculi**
5. Dezvoltarea unui **software de diagnosticare** de pseudopubertate precoce pe **baza imaginilor** rezultate în urma examenului citologic cât și pe **baza valorilor rezultate** din prelucrarea probelor biologice (ser, țesut).

MATERIALE ȘI METODE

- ✓ Studiul experimental va fi efectuat în conformitate cu „Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” publicat de US National Institute of Health (National Research Council 2011). Protocolul de studiu va fi aprobat de Comisia de Etică a Universității de Medicină și Farmacie ”Iuliu Hațieganu Cluj-Napoca.
- ✓ Animalele incluse în studiu, provin dintr-o biobază autorizată sanitar-veterinar (Biobaza Universității de Medicină și Farmacie “Iuliu-Hațieganu”, Cluj-Napoca).
- ✓ Animalele beneficiază de dietă standard și apă potabilă, care sunt administrate “ad libidum”.
- ✓ Sunt cazați în cuști conform standardelor sanitar-veterinare, temperatura ambientală (22°C) și umiditate (40%) controlată.

MATERIALE ȘI METODE

Animalele incluse în studiul, sunt reprezentate de femele și masculi, care au vârsta de 21 de zile post natație (PND) și o greutate cuprinsă între 30-50 grame.



MATERIALE ȘI METODE

- ✓ Animalele sunt divizate în 4 loturi (un număr total de 16 animale/lot, 8 femele și 8 masculi):
 - Lotul I control negativ: neexpus la lumină albastră (LA)
 - Lotul II: este expus la LA de la telefon
 - Lotul III: este expus la LA emisa de un monitor de calculator
 - Lotul IV: este expus la LA emisa de o lampa cu led (415-495 nm).
- ✓ Animalele vor fi expuse zilnic, începând de dimineață, timp de 16 ore, exceptând lotul control negativ care va fi expus la un ciclu lumină/întuneric de 12h/12h.
- ✓ După această perioadă ele vor beneficia de 8 ore de întuneric.
- ✓ Experimentul va avea o durată de 30 de zile.

✓ Inducerea pseudopubertății precoce va fi monitorizată prin:

➤ **Cuantificarea deschiderii vaginale**

- deschiderea vaginală are loc în zilele 32-34 post natație (PND), moment în care are loc debutul ciclului reproductiv
- ciclul estral cuprinde 4 etape reprezentate de proestru, estru, metestru și diestru, fiind în medie 4-5 zile
- pentru a putea surprinde momentul pubertății, toate femelele vor fi examinate începând cu PND 28 de zile, până la ziua PND 50.

✓ Inducerea pseudopubertății precoce va fi monitorizată prin:

➤ **Efectuarea frotiurilor vaginale**

- Recoltarea celulelor de la nivel vaginal se efectuează prin lavaj vaginal utilizând 0.2 ml NaCl 0.9% sterilă (Cora, 2015).
- Se examinează la microscopul optic (40X) și se estimează faza ciclului estral.
- Citologia vaginală se va efectua ca preparat de lame prin fixare și colorare (Cora, 2015). Metoda de colorare utilizată va fi Wright`s Giemsa (Cora, 2015).
- Fiecare fază a ciclului estral este stabilită în funcție de tipul celular predominant la nivelul frotiului vaginal.

- ✓ Inducerea pseudopubertății precoce va fi monitorizată prin:
 - **Evaluarea țesutului mamar și a testiculelor** - inspecția modificărilor de volum și măsurarea acestora (în cazul în care sunt prezente).
 - **Evaluarea greutateii corporale** - cântărirea animalelor, important în corelarea obezității cu pubertatea precoce. Animalele vor fi cântărite tot la 3 zile.
 - **Determinarea modificărilor markerilor serici** – glucoză, insulină, leptină, colesterol, HDL, LDL, AST, ALT, gGT, fosfatază alcalină, CRP, melatonină și cortizol



VĂ MULȚUMESC !