

Clinica medicală nr. 1 (cond.: P. Dóczy, doctor în științe medicale), Catedra de igienă (cond.: prof. M. Horváth), Catedra de fiziologie (cond.: conf. I Szabó) și Prosectura din Tîrgu Mureș (cond.: L. Schuller)

## CERCETĂRI EXPERIMENTALE ÎN DOMENIUL ATEROSCLEROZEI

### I.

Acțiunea unor monozaharide și a potasiului asupra leziunilor vasculare experimentale la iepuri

P. Dóczy, I. Szigeti, C. Bedő, I. Kifor, E. Módy, I. Sass, L. Schuller

Cînd a început efectuarea experiențelor pe animale, colectivul nostru de ateroscleroză a pășit pe drumul indicat de *Anicicov* și *Chalutov* încă în anul 1913.

Deși sîntem siguri că nu există un paralelism perfect între modificările arteriale provocate de colesterol și ateroscleroza umană, totuși, după cum a arătat Anicicov în lucrările sale recente din anul 1955 și 1956, această metodă experimentală face posibilă formularea de concluzii juste privind ateroscleroza la om.

### *Bazele teoretice ale experiențelor noastre*

Efectuînd prima serie de experiențe am încercat să vedem în ce fel și măsura ateroscleroza colesterolică a animalelor este influențată de glucoză și fructoză, iar dintre electroliți de potasiu.

Se știe că observațiile clinice și epidemiologice ca și experiențele pe animale se ocupă mai mult de rolul lipidelor și protidelor în patogeniza aterosclerozei. Corelația dintre metabolismul glucidic și ateroscleroză a fost mai puțin cercetată, deși datele privind alimentația populației din Europa și America arată că regimul persoanelor trecute de 40 ani conține mai multe glucide și relativ mai puține lipide (protidele figurează uneori în cantități insuficiente). În această perioadă a vieții se constată o îngrășare progresivă și o accelerare evidentă a procesului aterosclerotic. Este probabil că glicoliza se desfășoară pe o cale scurtă, promovind formarea de elemente lipidice, al cărei rezultat final este producția de colesterol și sinteza de acizi grași.

În afară de aceste considerente biochimice s-a dovedit că majoritatea glucidelor accentuează ateroscleroza experimentală. Cercetările din domeniul metabolismului lipidic și aplicarea rezultatelor în dietetică au făcut să se neglijeze regimul de crudități și fructe. Totuși ne-am pus întrebarea: care sînt substanțele organice și anorganice din tracte care influențează favorabil hipertensiunea și ateroscleroza. Am formulat ipoteza că fructoza ar putea fi eficace, iar dintre substanțele minerale am atribuit o acțiune favorabilă mai ales potasiului. Aceste două presupuneri ne-au îndemnat să începem experiențele pe animale, dat fiind faptul că substanțele componente ale fructelor nu au făcut subiectul unor cercetări privitoare la ateroscleroză.

Se știe că rolul fiziologic și metabolismul fructozei diferă de cel al celorlalte monozaharide. De ex. în doze zilnice mai mici de 70—100 gr nu ridică nici glicemia, nici glicozuria diabeticilor. Spre deosebire de glucoză oprește pierderea de potasiu a bolnavilor operați, echilibrîndu-le și balanța negativă azotată. Fructoza dilată coronarele.

Proprietățile favorabile ale fructozei se datoresc faptului că metabolismul ei este independent într-o măsură de sistemul insulino-adrenalimic, de sistemul antehipofizo-suprarenal. Metabolizarea ei este catalizată de un ferment specific: fructochinaza. S-a mai dovedit că fructoza paralizază fermenții proteolitici, mărind astfel conținutul proteic al ficatului. *Ciaicoj* arată că fructoza oprește sinteza accelerată de colesterol din ficatul diabetic. Acest efect favorabil se explică pe de o parte prin diminuarea sintezei endogene a colesterolului, pe de altă parte prin creșterea conținutului hepatic de glicogen, atât de important în metabolismul lipidic. Fructoza nu mobilizează insulina, astfel că nu scade potasemia (așa cum face glucoza), ci dimpotrivă este în stare să diminueze eliminarea acestui electrolit valoros. Înșirînd succint aceste acțiuni ale fructozei ne surprinde că fructoza nu a suscitât pînă în prezent interesul numeroșilor cercetători care s-au ocupat de ateroscleroză.

A doua ipoteză formulată de noi a fost că fructele acționează favorabil, grație conținutului lor de potasiu. Datele experimentale privind substanțele minerale și ateroscleroza sînt relativ puține. Se știe că potasemia scade în unele cazuri de hipertensiuni grave (*Hilden*). Lipsa de potasiu favorizează dezvoltarea cardiopatiilor steroide în timp ce administrarea lui le împiedică sau le oprește (*Selye, Bajusz*). Este un fapt bine cunoscut că potasiul are acțiune favorabilă asupra metabolismului miocardic (*Hegghin*).

### *Material și metodă*

La furajul obișnuit de vară a 25 de iepuroaice mature am adăugat zilnic o cantitate de 2 gr de colesterol, sub formă de globule de mămăligă de aprox. 3 gr. Primul lot de 5 animale a primit numai colesterol, al doilea a primit în plus 3 gr de glucoză zilnic, al treilea fructoză în aceeași cantitate, al patrulea 0,1 gr de  $K_2HPO_4$  zilnic, iar

al cincilea lot de control a fost hrănit numai cu furajul obișnuit. După cinci luni de alimentare specială (începută în luna iunie 1961) am sacrificat animalele.

### Rezultate anatomo- și histopatologice

La autopsie s-au găsit în aortă leziuni caracteristice, porțiuni cu infiltrate lipidice ale intimei sub formă de pete rotunde, fișii, plăci ridicate din nivelul teritoriilor normale. Histopatologic s-a pus în evidență o infiltrație grăsoasă a intimei, îngroșarea, fragmentarea fibrelor elastice. Substanța lipidică depozitată în intimă și straturile dintre intimă și media a fost colesterolul. În intima aortică s-a văzut și o infiltrație cu mucopolizaharizi acizi.

Modificările vasculare cele mai evidente și întinse le-am găsit la lotul I și II. Alimentate cu colesterol (I) și colesterol + glucoză (II). La lotul III, alimentat cu colesterină și fructoză s-au găsit leziuni vasculare mai puțin pronunțate, decât la primele două loturi. Animalele tratate cu potasiu (IV) au prezentat modificări macro- și microscopice surprinzător de ușoare. Modificările coronariene la acest lot au fost minime.

Glandele suprarenale s-au mărit sub influența colesterolului, cu excepția lotului căruia i s-a dat potasiu. Zona fasciculară și glomeruloasă a conținut mari cantități de lipide, exceptând lotul alimentat cu potasiu.

Ficatul animalelor din primele trei loturi a fost degenerat, iar citoplasma celulelor hepatice a conținut picături grase, fapt constatat și prin analiza biochimică. În plexul corioidean al creierului au apărut celule având citoplasmă cu aspect spongios la primele trei loturi, fapt relevat de puțini autori.

Colaboratorii noștri de la catedra de fiziologie, aplicând metoda lor de cercetare a protidelor solubile ale miocardului cu electroforeză pe hîrtie, au constatat că în condiții experimentale în proteinele miocardice apar modificări care corespund unei miocardoze. Acest fenomen nu a fost prevenit nici de fructoză. În lotul cu potasiu modificările au fost mai reduse. Cercetările noastre arată nu numai faptul că potasiul previne unele transformări ale țesutului miocardic, dar demonstrează și că leziunea miocardică apărută în cursul aterosclerozei, sindromul numit cardiocleroză, nu se datorește pur și simplu degenerescenței arteriale, stenozării coronarelor și irigației insuficiente consecutive. Credem că alimentația cu colesterol produce o tulburare metabolică care își are efectele dăunătoare concomitent în artere și miocard (vezi articolul lui Mody și colab. din acest număr).

### Rezultatele examinărilor biochimice

Din singele recoltat prin puncție cardiacă înaintea sacrificării animalelor am efectuat următoarele analize: dozarea colesterolului și fosforului lipidic, analiza protidelor, glico-și lipoprotidelor serice cu electroforeză pe hîrtie, testul de turbiditate Kunkel exprimat în valori de extincție, punind în evidență grosso modo hiper-beta-lipoproteinemia. S-a cercetat și conținutul în colesterol al ficatului.

Tabelul nr. I.  
Aorta abdominală

Lotul	Nr. animalelor	Gravitate	Observații
I.	5	++++	Leziuni grave
II.	4	++++	"
III.	5	+++	Pronunțate
IV.	5	+	Ușoare
V.	5	—	—
(control)			

Valorile medii figurează, în tabelul nr. II. În cazul lipidelor s-a luat în considerare și deviația standard.

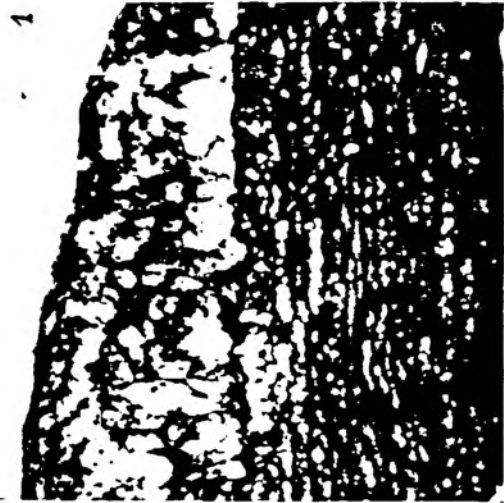


Fig. nr. 1. - Lotul 1. Celule spumoase în intima aortei. Fibre elastice laxe, îngroșate. (Rezorcina-tuchsină-van Gieson, Oc. 10 x, Ob. 9 x)

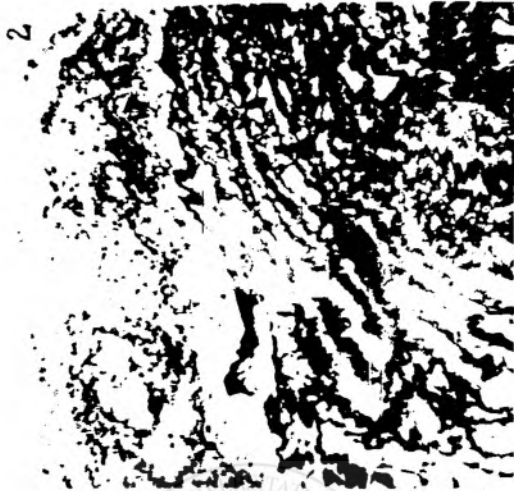


Fig. nr. 2. - Lotul II. Numeroase celule spumoase în intima aortei. Proliferarea elasticei, fibre laxe. (Rezorcina-tuchsină, van Gieson, Oc. 7 x, Ob. 9 x)



3



Fig. nr. 3. - Lotul III. Celule spumoase în intima îngroșată. Fibre elastice, subțiri, laxe, fragmentate (Rezorcina-fuchsină, van Gieson, Oc. 10 x, Ob. 9 x)

4



Fig. nr. 4. - Lotul IV. Intima aortei este mai puțin transformată, cu celule spumoase reduce la număr. Elastica prezintă leziuni moderate (Rezorcina-fuchsină, van Gieson, Oc. 10 x, Ob. 9 x)

Tabelul nr. II.  
Rezultatele analizelor biochimice

		Lotul I.	Lotul II.	Lotul III.	Lotul IV.	Lotul V.
lipidemia tot.	mgr%	510 $\pm$ 16	562 $\pm$ 19	550 $\pm$ 62	596 $\pm$ 21	280 $\pm$ 20
lipoprot. beta	"	64,2 $\pm$ 2,4	61,5 $\pm$ 4	64,3 $\pm$ 6	70,5 $\pm$ 6	43,7 $\pm$ 4,5
kilomicroni	"	5,4 $\pm$ 1,6	7,0 $\pm$ 1,4	4,8 $\pm$ 2,8	8,2 $\pm$ 1,8	—
glicoprot.	"	406	400	430	502	282
glicoprot. alb.	"	15,76	14,87	15,04	10,42	20,36
" alfa <sub>1</sub>	"	18,22	17,45	17,62	20,22	15,22
" beta	"	24,08	25,63	23,12	26,68	23,56
" gama	"	13,10	10,80	12,64	8,7	14,12
proteinemie	"	7,10	7,02	6,98	7,84	6,42
albumine	"	50,52	52,60	50,48	46,26	59,91
globuline a <sub>1</sub>	"	2,60	2,55	2,54	2,98	2,22
" alfa <sub>2</sub>	"	13,10	13,50	12,60	13,24	9,68
" beta	"	11,60	13,40	12,12	14,08	11,72
" gama	"	22,20	17,80	21,80	23,44	16,44
A/G	"	1,020	1,108	1,018	0,867	1,496
colesterolemie	"	425 $\pm$ 112	580 $\pm$ 101	450 $\pm$ 49,5	650 $\pm$ 104	70 $\pm$ 45
fosfor lipidic	"	13,2 $\pm$ 5,9	12,9 $\pm$ 3,4	15,3 $\pm$ 2,4	18,2 $\pm$ 1,4	5,0
lipide tot. aorta	"	44,5 $\pm$ 11,5	45,0 $\pm$ 12	31,5 $\pm$ 6,3	31,0 $\pm$ 10	16,7 $\pm$ 7,2
Kunkel ext.	"	1,17	1,04	1,29	1,36	0,045

1. Aorta uscată conține lipide în proporție de 16,7% în lotul de martori. Determinarea a fost efectuată cu metoda gravimetrică. Această valoare s-a triplat (44,5%) în urma ingerării de colesterol. Fenomenul nu a fost influențat de administrarea concomitentă a glucozei. S-a găsit însă un conținut lipidic mai redus, de numai 31,5% respectiv 31,0% când în alimentația animalelor la colesterol s-a asociat și fructoză sau potasiu.

2. La animalele din lotul II și III la care regimul aterogen a fost completat cu glucide am constatat după cum era de așteptat o colesterolemie mai pronunțată decât la cele din prima grupă, tratate numai cu colesterol. Observația se explică prin faptul cunoscut că produsele de metabolism intermediar al glucidelor au un rol important în sinteza endogenă a colesterolului.

Ne-a surprins însă creșterea minimă a colesterolemiei la animale tratate cu fructoză (450 mg%, față de valoarea medie de 425 mg% din lotul I). În același timp, glucoza a crescut în mod considerabil efectul hipercolesterinemizant al regimului aterogen (valoarea medie, a colesterinemiei la acest lot fiind de 580 mg%).

O altă observație care ne-a părut importantă a fost că în cazul lotului tratat cu potasiu s-a găsit colesterolemia cea mai ridicată (650 mg%). Prin urmare hipercolesterinemia cea mai marcată a fost asociată cu leziunile vasculare cele mai reduse.

3. Fosfolipidele plasmatice au avut în general valori proporționale cu conținutul lipidic al aortei. Având în vedere numărul relativ mic al observațiilor precum și variațiile mari pe care le prezintă rezultatele, nu intenționăm de a formula o concluzie generală. Este totuși de relevat că valorile medii ale fosfolipidelor sînt cele mai ridicate la lotul animalelor tratate cu fructoză sau potasiu, unde conținutul lipidic al aortei a fost cel mai mic.

4. La efectuarea testului de turbiditate *Kunkel* a fost necesară, datorită hiperlipemiei, o diluare de 1/20 a serului. Valorile cele mai mari ale reacției exprimate

prin extincție au fost la lotul cu potasiu (1,36) și fructoză (1,29). La animalele care au primit numai colesterol sau colesterol+glucoză valorile au fost relativ mai scăzute (1,17 resp. 1,04). Valoarea medie a lotului martor a fost de 0,045.

5. Administrarea colesterolului crește considerabil lipidemia totală. Față de valorile medii de 260 mg% ale lotului martor, valorile maxime de 596 mg% au fost găsite în urma administrării simultane de colesterol cu potasiu. Animalele, primind numai colesterol, au prezentat valori de 510 mg%. Asocierea glucidelor a mărit valorile lipidemiei: glucoza la 562 mg%, fructoza la 550 mg%.

6. Examenul electroforetic al protidelor serice a pus în evidență o hiperprotidemie ca urmare a unei administrări susținute de colesterol. Valorile maxime au fost găsite la lotul IV iar cele minime la lotul I. Proteinograma a arătat o hipoalbuminemie și hiperglobulinemie. Ni s-a părut caracteristică creșterea undelor globulinelor alfa și beta, fapt explicat prin mărirea conținutului de lipide. La lotul IV s-a observat cea mai accentuată hipoalbuminemie, hiperglobulinemie și hiper-gamaglobulinemie. La animalele tratate numai cu colesterol valorile globulinelor alfa au depășit nivelul globulinelor beta, fapt care nu s-a constatat la celelalte loturi cu excepția a două animale din lotul II.

Foarte probabil că această modificare a proteinogramei este influențată într-o măsură mai mare de fructoză și potasiu, decât de glucoză.

7. Lipoproteinemia beta (determinată cu electroforeza pe hîrtie) a fost mărită în mod considerabil de regimul aterogen. Această creștere a fost mai evidentă la lotul IV, la care am găsit de asemenea cel mai crescut nivel de kilomicroni. Această observație poate indica faptul deosebit de important că filtrarea lipoproteinelor din lumenul vascular spre perete, prin urmare depozitarea acestora, este diminuată de ionii de potasiu.

8. Ingerarea de colesterol a ridicat nivelul protidelor serice la toate loturile. Valorile cele mai ridicate le-am găsit la animalele tratate cu potasiu. Din punct de vedere calitativ, am constatat scăderea glicoprotidelor care au aceeași viteză de migrare ca albuminele și creșterea fracțiunii, migrînd cu globulinele alfa2 care au atins nivelul cel mai ridicat la lotul IV.

9. Conținutul în colesterol al ficatului a atins punctul maxim (1.570 mg%) la lotul cu glucoză, fiind cel mai puțin ridicat la lotul tratat cu fructoză (1.090 mg%). Această observație este în concordanță cu presupunerea după care fructoza contribuie mai puțin la sinteza endogenă de colesterol, decât glucoza. Se mai poate presupune însă că fructoza micșorează depozitarea colesterolului la nivelul ficatului.

Rezultatele analizelor biochimice concordă cu cele relatate în lucrările altor autori, apărute anterior. Și noi am constatat așa-numitul sindrom biochimic, favorizînd evoluția aterosclerozei, adică: hipercolesterinomie, hiper-beta-lipoprotidemie, creșterea lipidemiei totale, hipoalbuminemie, creșterea globulinelor, în primul rînd a fracțiunilor alfa și gama, precum și creșterea nivelului glicoprotidelor serice. În acest domeniu nu prezentăm rezultate noi și originale.

Nu împărtășim părerea autorilor care trag concluzii prea categorice din așa-numitul sindrom biochimic. Noi am constatat pe animalele noastre că nu există totdeauna paralelism între modificările biochimice și cele vasculare. Cel puțin în cazul iepurilor, schimbările în compoziția lipidelor nu reflectă totdeauna situația din artere. Astfel, la lotul IV alimentat cu colesterol și potasiu, colesterolul seric ridicat și valorile mari de beta-lipoproteine au fost în contrast evident cu modificările vasculare reduse. Pe baza acestor date se impune întrebarea: hipercolesterolemia poate fi considerată suficientă la stabilirea acelor tulburări ale metabolismului lipidic, care ar fi factorul etiologic primordial al aterosclerozei umane?

În experiențele noastre sarea de potasiu a împiedicat ca lipidele să părăsească sângele circulant și astfel au salvat peetele vascular și protidele miocardului de urmările tulburărilor metabolice de după regimul aterogen. Acțiunea favorabilă a potasiului se adevărește și prin faptul că la lotul cărui i s-a dat potasiu conținutul global de lipide al aortei a fost scăzut, plăcile ateromatoase ale intimei au fost

reduse ca număr și mărime. Depozite de lipide nu s-au format nici în vasele cordului, plămînelui, splinei și suprarenala a rămas îndemnă de această degenerescență.

Sub acțiunea *glucozei* așa cum era de așteptat, colesterolul seric a prezentat o creștere considerabilă. Modificările vasculare nu s-au accentuat însă, în comparație cu lotul căruia i s-a administrat numai colesterol. Dimpotrivă *fructoza*, deși a ridicat nivelul colesterolului seric (modificînd nefavorabil sindromul biochimic), a fost în stare să împiedice într-o anumită măsură degenerescența ateromatoasă a pereților vasculari, așa cum a arătat examenul macro- și microscopic, precum și analiza biochimică a conținutului lipidic global al aortei.

În ultimă instanță ipoteza noastră după care *fructoza și potasiul cele două substanțe componente ale fructelor, împiedică ateroscleroza experimentală s-a dovedit a fi justă*. Examenul morfologic și unele analize biochimice au pledat mai mult pentru acțiunea favorabilă a sării de potasiu. Pentru a putea trage concluzii practice și îndeosebi terapeutice trebuie să continuăm cercetările noastre pe scară mai întinsă.

*Sosit la redacție: 18 iunie 1962.*