

Academia de științe medicale, Centrul de cercetări medicale din Tirgu Mureș
(cond.: prof. dr. I. Csögör, doctor docent, medic emerit, membru al Academiei
de științe medicale)

DETERMINAREA COLESTEROLULUI DIN ȚESUTUL ADIPOS UMAN *)

dr. M. Kerekes, Delia Nicoară, dr. Șt. Csögör

Este binecunoscută marea afinitate și puterea de retenție a țesutului aortic față de colesterol, lucru demonstrat și experimental. Este totuși logică presupunerea că, asemănător aortei, o acumulare de colesterol are loc și la nivelul altor țesuturi. Determinările efectuate au demonstrat că, în cursul hipercolesterinozei experimentale la iepuri, ciini de prerie și

*) Lucrare prezentată la consfătuirea „Metabolismul lipidic și glucidic. Investigație biochimică și metodologie de laborator”, organizată de U.S.S.M., Filiala Mehedintzi, 29—30 septembrie 1972

maimuțe Rhesus, pe lângă creșterea pronunțată a colesterolemiei s-a observat și creșterea marcată a acestei substanțe în țesutul hepatic, splenic, renal, adipos și muscular (1). La ciinele de prerie de exemplu, colesterolul din diferitele țesuturi crește în medie de 2—3 ori, în timp ce în aortă de 7 ori (1). Ca un amănunt interesant poate fi amintit că, la șobolanii supuși unei diete bogate în colesterol, plămîinii stochează o mare parte a acestuia. Khan și colab. (1) sînt de părere că principala sursă a colesterolului plasmatic o reprezintă diferitele țesuturi, care deci ar putea fi considerate depouri de colesterol. Determinările efectuate la om au demonstrat că, deși în unele cazuri de ateroscleroză se observă creșterea colesterolului în diferitele țesuturi, cu cîteva excepții nu s-a găsit o corelație între nivelul colesterolului tisular și gradul aterosclerozei (3).

Există date relativ puține și în majoritate vechi, referitor la conținutul în colesterol al țesutului adipos. Dorind să studiem colesterolul acumulat în țesutul adipos, în special în vederea stabilirii unui eventual rol al țesutului adipos în reglarea colesterolemiei, am întîmpinat greutăți de ordin tehnic.

Tehnicile folosite de diferiți autori, pentru determinarea colesterolului din țesutul adipos, se aseamănă cu cele întrebuițate în cazul altor țesuturi: colesterolul este extras cu solvenții obișnuiți, de obicei cloroform-metanol sau alcool-eter, după care se determină cu ajutorul reacției de culoare Liebermann-Burchard (2, 3, 5). Cu ocazia unei asemenea extracții sînt dizolvate bineînțeles și cantități însemnate de alte lipide, care pot influența reacția de culoare. În special acizii grași nesaturați pot interfera cu colesterolul (4). Efectul nedorit al prezenței lipidelor se manifestă mai ales la reacția Zlatkis-Zak (7), care din acest motiv nu poate fi întrebuițată. Maurizi (3) însuși recunoaște că, rezultatele sale obținute cu această metodă nu sînt interpretabile.

Avînd în vedere greutățile arătate, ne-am propus elaborarea unei metode pentru determinarea cantității colesterolului din țesutul adipos — satisfăcătoare din punctul de vedere al preciziei și al reproductibilității — și folosirea ei în vederea obținerii unor date referitoare la variațiile cantității colesterolului din țesutul adipos uman.

Material și metodă

Am folosit țesut adipos subcutanat necroptic, recoltat din regiunea abdominală de la indivizi decedați din diferite cauze și care au prezentat semne de ateroscleroză, respectiv țesut adipos provenit de la femei suferinde de diferite afecțiuni ginecologice, materialul fiind recoltat cu ocazia unor intervenții chirurgicale.

Extracția laborioasă a țesutului adipos a fost înlocuită cu topirea lui. Pentru acest scop, o bucătică de țesut adipos de aproximativ 0,3—0,5 g se introduce într-o eprubetă și se ține la etuvă la temperatura de 120° C. timp de 30 de minute. Acest procedeu are și avantajul de a elimina apa din țesut, respectiv din grăsimea topită. Din lichidul uleios-gălbui, într-o eprubetă, se cîntăresc la balanța analitică 100 mg, adăugînd apoi 1 ml cloroform. După dizolvarea grăsimii se adaugă 3 ml anhidridă acetică și cu ajutorul unei micropipete 0,05 ml acid sulfuric concentrat. Se agită, se lasă să stea 20 de minute la temperatura camerei, fără a ține la întuneric

și se citește extincția soluției la spectrofotometru, la 620 nm, în cuvă de 1 cm, față de apă. Cantitatea de colesterol pe care o conține țesutul adipos se calculează cu ajutorul unei curbe de etalonare. Pentru obținerea acesteia se prepară o serie de diluții de colesterol în cloroform, cu concentrațiile de 0.05-0,1-0,2-0,4-0,6 mg/ml. La câte 1 ml din aceste soluții se adaugă 3 ml anhidridă acetică și 0.05 ml acid sulfuric concentrat, în continuare procedindu-se în felul descris.

Celelalte substanțe lipidice (în special trigliceridele) conținute în țesutul adipos, nu interferează cu reacția de culoare Liebermann-Burchard. Spectrele de absorbție pentru colesterolul pur, respectiv pentru cel din țesutul adipos evoluează paralel.

La unele din cazuri, am efectuat și determinări din țesut adipos omogenizat și extras cu etanol-eter 2:1 și cloroform-metanol 2:1. În aceste cazuri, valorile sînt cu aproximativ 10% mai mari, decît în grăsimile topite. Diferența se datorește probabil cantității mai mari de colesterol din țesutul conjunctiv și din membranele celulare.

Rezultate și discuții

Cu ajutorul metodei descrise am determinat colesterolul din grăsimea umană la 10 femei suferinde de diferite afecțiuni ginecologice și la 24 decedați (12 femei, 12 bărbați) în urma diferitelor cauze. Majoritatea decedaților au prezentat semne evidente de ateroscleroză. Rezultatele obținute sînt prezentate în tabelul nr. 1.

Tabelul nr. 1

Conținutul în colesterol al țesutului adipos subcutanat uman

Originea țesutului adipos	Număr de cazuri	Colesterol mg%,	
		Limite	Media ± eroarea standard a mediei
Bioptic	10	114—166	146 ± 5.4
Necroptic (bărbați)	12	130—285	204 ± 12.7
Necroptic (femei)	12	179—303	225 ± 11.6

Cantitatea de colesterol găsită la materialul biptic se situează în jurul valorii găsite de alți autori. *Martinsson* (2) consideră ca valoare normală 160 mg%, iar *Maurizi* (3), precum și *Tarján* și colab. (6) 130—300 mg%. Nu se încadrează în aceste limite valorile găsite de *Sebök* (5) la persoanele care nu sufereau de ateroscleroză: 90—898 mg%, cu o medie de 312 ± 244 mg%!

În materialul necroptic, valorile sînt statistic foarte semnificativ ($p < 0.01$) crescute față de valorile găsite în materialul biptic. Există o diferență puțin semnificativă ($0,02 < p < 0.05$) și între valorile colesterolului din țesutul adipos al bărbaților și al femeilor.

Sebök (5) a observat la aterosclerotici creșterea considerabilă a colesterolului din țesutul adipos. Pornind de la presupunerea că în aterosclerozele mai grave, unde a constatat valorile cele mai ridicate și colesterolemia este crescută, el este de părere că țesutul adipos ar constitui un depozit pasiv, care înmagazinează o parte a colesterolului plasmatic. Trebuie considerată ca neverosimilă însă valoarea medie de 1.264 mg% colesterol în țesutul adipos, găsită de *Sebök* la persoane cu ateroscleroză gravă. Ea se datorează probabil unor erori, ca de altfel și valorile normale indicate de același autor. În experiențele noastre, într-un singur caz am obținut o valoare peste 300 mg%. Diferențele dintre valorile găsite în cazul materialului biptic, respectiv necroptic par să sprijine ipoteza referitoare la rolul de „depozit colesterolic pasiv” al țesutului adipos în ateroscleroză, în sensul că, colesterolemia crescută produce depunerea pasivă a acestuia în țesutul adipos.

Sosit la redacție: 28 februarie 1973

Bibliografia

1. KHAN B., COX G. E., ASDAL K.: Arch. Pathol. (1963), 76, 369;
2. MARTINSSON A.: Acta Med. Scand. (1967), 182, 795;
3. MAURIZI CH. P., ALVAREZ C., FISCHER G. C., TAYLOR C. B.: Arch. Pathol. (1968), 86, 644;
4. RADSMA W.: Acta Brevia Neerl. Physiol. Pharmacol. Microbiol. (1935), 5, 67;
5. SEBÖK J.: Kisérl. Orvostud. (1968), 20, 313;
6. TÁRJÁN R., KRÁMER M., SZÓKÉNÉ—SZOTYORI K.: Orv. Hetilap, (1966), 107, 1162;
7. ZLÁTKIS A., ZAK B., BOYLE A. J.: J. Lab. Clin. Med. (1953), 41, 486.