
Katedra i II Klinika Chorób Wewnętrznych. Wydział Lekarski.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr med. Alfred R. Tuszklewicz
i Centralne Laboratorium Kliniczne PSK 4 w Lublinie
Kierownik: doc. dr med. Tomasz Borkowski

Jerzy ŁOPATYŃSKI

**Wpływ doświadczalnego nadciśnienia tętniczego i stosowania diety
miażdżycorodnej na cholesterol ściany aorty i poziom lipidów
w surowicy krwi**

Влияние экспериментальной гипертонии и применения атеросклерогенной диеты
на холестерол стенки аорты и уровень липидов в сыворотке крови

The Effect of Experimental Hypertension and Atherogenic Diet on the Content
of Cholesterol in the Aorta Wall and on the Level of Lipids in the Serum

Jedną z przyczyn rozwoju zaburzeń gospodarki lipidowej, a następnie miażdżycy jest dieta wysokokaloryczna o dużej zawartości tłuszczów nasyconych i cholesterolu (27). Wśród wielu innych czynników, które mają przyspieszać rozwój miażdżycy wymienia się nadciśnienie tętnicze krwi (1, 16, 22, 30). Jednak w pewnych grupach osobników z nadciśnieniem nie udało się wykazać zależności pomiędzy wysokością ciśnienia krwi a nasileniem zmian miażdżycowych (4, 8), ani znamiennej korelacji pomiędzy istnieniem nadciśnienia a rozwojem uszkodzeń naczyń wieńcowych serca u szczura (31). Davis przypuszczał, że nie ma prostego związku przyczynowego pomiędzy nadciśnieniem i miażdżycą, ale oba stany mogą być spowodowane tą samą przyczyną. Być może zmiany miażdżycowe w naczyniach, wpływając na dopływ krwi do różnych obszarów, mogą być przyczyną nadciśnienia (8 wg 25). Ostatnio Moore, opierając się na obserwacjach klinicznych, anatomicznych i doświadczalnych, twierdzi, że często przyczyną niedokrwienia nerek, a w konsekwencji nadciśnienia, są mikrozatory agregatami płytek, formujące się na zaawansowanych zmianach miażdżycowych (23). A więc miażdżycą byłaby procesem pierwotnym, a nadciśnienie jej powikłaniem.

Biorąc pod uwagę znaczenie diety w patogenezie miażdżycy oraz nadciśnienie jako czynnik mogący wpływać na rozwój miażdżycy, postanowiono prześledzić stężenie cholesterolu całkowitego w ścianie aorty oraz cholesterol i lipemę całkowitą w surowicy krwi u szczurów otrzymujących dietę miażdżycorodną, u których równocześnie wywołano nadciśnienie.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Badania prowadzono na białych szczurach, samcach, szczepu Wistar, których wiek przy końcu doświadczenia wynosił ok. 7 miesięcy. Zwierzęta przebywały w takich samych warunkach doświadczalnych. Aby ułatwić powstanie nadciśnienia (29), wszystkim szczurom usuwano lewą nerkę i co najmniej po czterech tygodniach od wykonania tego zabiegu dokonywano pomiarów ciśnienia krwi. Zwierzęta te podzielono na cztery grupy doświadczalne. I grupa obejmowała 12 szczurów kontrolnych. II grupa — 11 szczurów otrzymujących karmę miazdźcorodną. III grupa — 10 szczurów, które otrzymywały iniekcje octanu dezoksykortykosteronu (DOCA) celem wywołania nadciśnienia. IV grupa — 11 szczurów, które otrzymywały karmę miazdźcorodną i iniekcje DOCA. Oprócz karmy podstawowej zwierzęta grupy II i IV otrzymywały codziennie karmę miazdźcorodną o składzie ustalonym przez Hogerwerfa (14) oraz Hartrofta i Thomasa (12) w modyfikacji Samochowca (28) z tą różnicą, że nie dodawano do niej Vit. D₂. U zwierząt grupy III i IV wywoływano nadciśnienie, podając 3 razy w tygodniu w postaci iniekcji domięśniowych 0,5 mg DOCA (Desoxycortonum — POLFA). Do picia zwierzęta te otrzymywały 1,5% roztwór soli kuchennej. Przed rozpoczęciem doświadczenia i w czasie jego trwania co 2—3 tygodnie oznaczano na ogonie szczura ciśnienie skurczowe krwi metodą pletysmograficzną, wg Byroma i Wilsona (6). Po upływie 14—15 tygodni zwierzęta zabijano przez dekapitację. W surowicy krwi oznaczano stężenie cholesterolu całkowitego metodą Jandy (15) wg Homolki (13) oraz lipemii całkowitą metodą Bragдона (3) wg Michajlika (21). Tętnice główne preparowano na odcinku od zastawek aorty do miejsca podziału na tętnice biodrowe, oddzielano przydanę, krajano na drobne skrawki i homogenizowano w wodzie, sporządzając 2,5% homogenat. Następnie stosowano procedurę ekstrakcyjną, opisaną w poprzednich doniesieniach z naszej pracowni (2), a opierającą się głównie na schemacie ekstrakcji podanym przez Greena i Lowthera (10). Osad delipidowano, zadając go kolejno acetonem, alkoholem absolutnym i eterem dwuetylowym, każdy w ilości 5 ml i ekstrahowano po 8 godzin w temp. ok. 4°C. Roztwory acetonowy, alkoholowy i eterowy zlewano razem przez sączek, popłukując go 2 ml alkoholu i eteru. Po odparowaniu do sucha pozostałość rozpuszczano w 5 ml chloroformu i oznaczano cholesterol całkowity, wyrażając wyniki w mg cholesterolu na gram wilgotnej aorty.

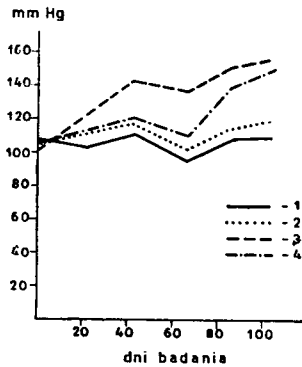
Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej, porównując średnie wartości grupy I z wartościami grupy II, III i IV oraz grupę II z III, III z IV, posługując się testem Studenta (26) i przyjmując za statystycznie znamienne wartości $P < 0,05$.

WYNIKI

Ciśnienie skurczowe krwi

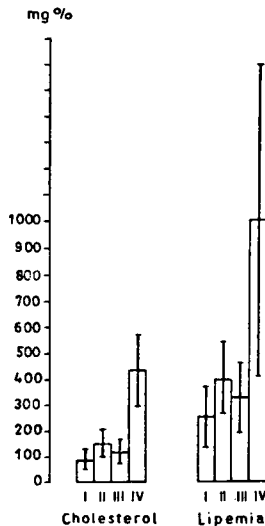
Skurczowe ciśnienie tętnicze krwi u zwierząt grupy kontrolnej (grupa I) przed rozpoczęciem doświadczenia wynosiło średnio 106 mmHg, a tuż przed dekapitacją 109 mmHg. U zwierząt otrzymujących dietę miazdźcorodną (grupa II) — początkowo 105 mmHg, przy końcu doświadczenia 119 mmHg. Najszybszy i największy wzrost ciśnienia obserwowano u zwierząt otrzymujących DOCA (grupa III), które ze 103 mmHg na początku doświadczenia wzrosło pod koniec do 154 mmHg. U zwierząt

otrzymujących DOCA i dietę miażdżycorodną (grupa IV), u których początkowo średnio ciśnienie krwi wynosiło 105 mmHg, obserwowano także wyraźny wzrost ciśnienia do 148 mmHg przy końcu doświadczenia. Powyższe dane ilustruje ryc. 1.



Ryc. 1. Średnie wartości ciśnienia skurczowego krwi w poszczególnych grupach doświadczalnych; 1 — grupa kontrolna (I), 2 — grupa otrzymująca dietę miażdżycorodną (II), 3 — grupa z nadciśnieniem wywołanym DOCA (III), 4 — grupa z nadciśnieniem otrzymująca dietę miażdżycorodną (IV)

Average values of systolic blood pressure in separate groups of the examined animals; 1 — control group (I), 2 — group kept on atherogenic diet (II), 3 — group with hypertension induced by DOCA (III), 4 — group with hypertension induced by atherogenic diet (IV)



Ryc. 2. Cholesterol i lipemia całkowita w surowicy krwi
The levels of cholesterol and total lipids in the serum

Cholesterol w surowicy krwi

Średnie stężenie cholesterolu całkowitego w surowicy krwi w grupie kontrolnej wynosiło 86,8 mg%, w grupie II — 152,3 mg%, w grupie III — 118,9 mg%, a w grupie IV — 433,3 mg%. Statystycznie znamieną jest różnica średnich grupy IV i pozostałych grup ($P < 0,001$), a także różnica średnich grupy II i grupy kontrolnej ($P < 0,01$). Powyższe dane ilustruje ryc. 2.

Lipemia całkowita w surowicy krwi

Średnie stężenie lipidów całkowitych w surowicy krwi u szczurów kontrolnych wynosiło 253 mg%, w grupie II — 399 mg%, w grupie III — 328 mg%, a w grupie IV — 1004 mg%. Statystycznie znamienne są różnice średnich grupy IV i I ($P < 0,001$), IV i II ($P < 0,01$), IV i III ($P < 0,01$) oraz grupy II i I ($P < 0,02$). Omówione dane ilustruje ryc. 2.

Cholesterol w ścianie aorty

Zawartość cholesterolu w ścianie naczynia wyrażona w mg/gram mokrej tkanki wynosiła w grupie I — 0,86 mg, w grupie II — 0,81 mg, w grupie III — 0,92 mg i w grupie IV — 0,94 mg. Różnice średnich poszczególnych grup nie są statystycznie znamienne.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Selye wykazał, że u szczurów po jednostronnej nefrektomii podawanie DOCA i roztworu chlorku sodu do picia prowadzi do powstawania nadciśnienia tętniczego (29). Odtąd metoda ta jest używana do wywoływania nadciśnienia doświadczalnego (20). Byrom (6) obserwował u zdrowych szczurów średnie wartości skurczowego ciśnienia tętniczego w granicach 106 mmHg, a więc podobnie jak u badanych przez nas szczurów kontrolnych. W porównaniu z tą grupą zwierzęta otrzymujące jedynie dietę miazdźycorodną wykazały tylko nieznaczny wzrost ciśnienia krwi, natomiast stosowane dawki DOCA i NaCl powodowały wyraźne podwyższenie ciśnienia tętniczego. Inni autorzy, stosując wyższe niż w naszym doświadczeniu dawki DOCA, uzyskiwali w tym samym czasie wyższe wartości ciśnienia tętniczego (18, 19).

Zwierzęta otrzymujące dietę miazdźycorodną wykazywały wyraźnie wyższy średni poziom cholesterolu i lipemii całkowitej w surowicy krwi niż zwierzęta kontrolne. Wartości te były szczególnie wysokie, gdy równocześnie z podawaniem karmy miazdźycorodnej wywoływano nadciśnienie przez podawanie DOCA i roztworu NaCl. Obserwowane różnice średnich były wysoce statystycznie znamienne. Jednak samo nadciśnienie wywołane powyższą metodą, nawet bez podawania karmy miazdźycorodnej, prowadziło do wyraźnie wyższego poziomu cholesterolu i lipemii całkowitej w surowicy krwi, chociaż bez cech statystycznej znamienności.

Inni autorzy, podając szczurom dietę miazdżycorodną o podobnym składzie, obserwowali także wyraźny wzrost cholesterolu (7, 11, 18, 19) i lipemii (18, 19) w surowicy krwi. O tym, że wywołanie nadciśnienia podawaniem DOCA jeszcze zwiększa te wartości donosili także K r ó l i wsp. (19) oraz K o n t u r e k i wsp. (18). Wydaje się, że zjawisko to można tłumaczyć znanym faktem wzmagania wchłaniania tłuszczu z przewodu pokarmowego przez hormony kory nadnerczy (17). D a l y i wsp. (7) także u szczurów z nadciśnieniem nerkowym obserwowali wyższy poziom cholesterolu w surowicy niż u szczurów o prawidłowym ciśnieniu, co nasuwa przypuszczenie, że samo nadciśnienie niezależnie od przyczyny wywołującej je podnosi poziom cholesterolu w surowicy krwi.

Spośród różnych metod określania stopnia rozwoju zmian miazdżycowych wybrano obiektywną metodę, polegającą na oznaczaniu zawartości cholesterolu w ścianie aorty. W naszym materiale doświadczalnym obie grupy zwierząt z nadciśnieniem wykazywały nieco wyższe średnie wartości cholesterolu całkowitego w ścianie aorty, jednak bez cech statystycznej znamienności wyników. W badaniach pōsmiertnych u ludzi P a t e r s o n i wsp. stwierdzili wyższe stęzenie lipidów ekstrahujących się z tętnic mózgowych i wieńcowych u osobników z nadciśnieniem niż u osobników bez nadciśnienia (24). Stosując kryteria anatomopatologiczne, K r ó l i wsp. (19) oraz K o n t u r e k i wsp. (18) obserwowali wybitne zmiany miazdżycowe w aortach i sercach szczurów z nadciśnieniem wywołanym DOCA i otrzymujących dietę miazdżycorodną. Samo nadciśnienie dawało zmiany znacznie mniejsze. Także wyniki innych prac sugerują potęgujący wpływ nadciśnienia na rozwój zmian miazdżycowych (5, 9, 25, 30).

Jak wynika jednak z naszych doświadczeń, opisanych w tej pracy, wywołanie zaburzeń gospodarki lipidowej i nadciśnienia nie daje gwarancji wywołania ewidentnej miazdżycy doświadczalnej. Potwierdzałoby to doświadczenia W i s l e r a i wsp. (31), którzy nie spostrzegali znamiennej korelacji pomiędzy istnieniem nadciśnienia a rozwojem uszkodzenia naczyń wieńcowych u szczura. Również cytowane już rozważania M o o r a (23) zdają się przeczyć utartemu pogładowi o przyspieszaniu przez nadciśnienie rozwoju miazdżycy. Zdaniem M i t c h e l a i S c h w a r t z a (22) istnieją powody, dla których z dużą ostrożnością należy traktować wiele danych z dotychczasowych prac zmierzających do wyjaśnienia związku między miazdżycą a nadciśnieniem, wśród tych powodów zaś oczywisty jest fakt, że zarówno w doświadczeniach, jak i w czasie obserwacji klinicznych wiele czynników zmienia się równolegle i dlatego trudno ustalić, czy są one związane przyczynowo.

WNIOSKI

1. Nadciśnienie tętnicze u szczurów po jednostronnej nefrektomii, wywołane podawaniem DOCA i roztworu NaCl do picia, stosowanie diety miażdżycorodnej i kombinacja tych dwu czynników, wywołuje zwiększenie stężenia cholesterolu i lipemii całkowitej w surowicy krwi, nie powodując istotnych zmian w zawartości cholesterolu ściany aorty.

2. Najwyższe wartości cholesterolu i lipemii całkowitej w surowicy krwi obserwowano w grupie zwierząt z nadciśnieniem, otrzymujących karmę miażdżycorodną, niższe w grupie zwierząt otrzymujących tylko karmę miażdżycorodną, najniższe w grupie zwierząt, u których wywołano jedynie nadciśnienie (w tym ostatnim przypadku obniżenie bez cech statystycznej znamienności).

PISMIENNICTWO

1. Bąk S., Ostrowska S., Socha W., Tutaj L.: Pol. Tyg. Lek., **13**, 421, 1958.
2. Borkowski T., Hanzlik J., Tyburczyk W., Łopatyński J.: Pol. Arch. Med. Wewn., **36**, 743, 1966.
3. Bragdon J. H.: J. Biol. Chem., **90**, 513, 1951.
4. Bronte-Stewart B., Hapinstall R. M.: J. Path. Bact., **68**, 407, 1954.
5. Burch G. E., Philips J. H.: Amer. Heart J., **60**, 163, 1960.
6. Byrom F. B., Wilson C.: J. Physiol., **93**, 301, 1938.
7. Daly M. M., Deming O. B., Raeff V. M., Brun L. M.: J. Clin. Invest. **42**, 1606, 1963.
8. Davis D., Klainer M. J.: Amer. Heart J., **19**, 193, 1940.
9. Goldstein F., Jenson W. K., Waldron J. M., Duncan G. G.: Ann. Int. Med., **44**, 446, 1956.
10. Green N. M., Lowther D. A.: Biochem. J., **71**, 55, 1959.
11. Hanzlik J.: Pol. Arch. Med. Wewn., **35**, 1209, 1965.
12. Hartroft W. S., Thomas W. A.: J. A. M. A., **164**, 1899, 1957.
13. Homolka J.: Diagnostyka biochemiczna, PZWL, Warszawa 1958.
14. Hoogerwerf S.: Ärztl. Forsch., **9**, 540, 1955.
15. Janda J.: Čas. Lek. Čes., **91**, 21, 1952.
16. Kannel W. B. i wsp.: Ann. Intern. Med., **55**, 33, 1961.
17. Konturek S., Horzela J., Szybiński Z.: Endokryn. Pol., **16**, 183, 1965.
18. Konturek S., Król W.: Pol. Tyg. Lek., **19**, 659, 1964.
19. Król W., Konturek S.: Pol. Tyg. Lek., **19**, 281, 1964.
20. Mandes Z., Szreniawski Z., Zabłocki B., Dariusz H.: Acta Physiol. Pol., **9**, 503, 1958.
21. Michajlik A.: Acta Physiol. Pol., **13**, 339, 1962.
22. Mitchel J. R. A., Schwartz C. J.: Arterial Diseases. Blackwell Scientific Publication, Oxford 1965.
23. Moore S.: Canad. Med. Assoc., **96**, 467, 1967.
24. Paterson J. C., Mills J., Lockwood C. H.: Canad. Med. Assoc. J. **82**, 65, 1960.

25. Pickering G. W.: High Blood Pressure. J. A. Churchill L. J. D., London 1955.
26. Rydygier J.: Pol. Tyg. Lek., 2, 739, 1947.
27. Rożyńska D.: Pol. Arch. Med. Wewn., 35, 1387, 1965.
28. Samochowiec L.: Diss. Pharm., 11, 99, 1959.
29. Selye H.: Stress życia, PZWL, Warszawa 1960.
30. Wilens S. L.: Science, 114, 389, 1951.
31. Wissler R. W., Eilert M. L., Schroeder M. A., Cohen L.: Arch. Path., 57, 333, 1954.

Otrzymano 12 IV 1968.

РЕЗЮМЕ

Исследовалось влияние атеросклерогенной диеты и опытной гипертонии на содержание холестерина в стенке аорты, а также на уровень холестерина и полной липемии в сыворотке. Эксперименты проводились на белых крысах штамма *Wistar*. В сыворотке группы животных, получавших атеросклерогенную диету, установлены высшие по сравнению с контрольной группой величины холестерина и полной липемии. Эти величины были самыми высокими в группе получавших атеросклерогенную диету животных, у которых одновременно была вызвана гипертония. Ни в одной из исследованных групп изменений в концентрации холестерина в сыворотке не обнаружено.

SUMMARY

The effect of atherogenic diet and experimental hypertension on the content of cholesterol in the aorta wall was investigated, and the levels of cholesterol and total lipids in the serum were determined. The studies were carried out on rats of *Wistar* breed. In animals kept on atherogenic diet, the levels of cholesterol and total lipids in the serum were found to be higher than those in control animals. The levels of cholesterol and total lipids in the serum were highest in the group of rats kept on atherogenic diet, at the same time being subjected to hypertension. No changes in the cholesterol levels in the aorta were found in either of the examined animal groups.

