

ADAM KĄDZIOLKA, WIESŁAW GAŚSIOR

## Występowanie hiperlipoproteidemii i miażdżycy naczyń wieńcowych serca u świń

Z Zakładu Fizjopatologii Instytutu Nauk Fizjologicznych Wydziału Weterynaryjnego AR w Lublinie

W patologii chorób krążenia krwi człowieka hiperlipoproteidemie, zwłaszcza pierwotne, uwarunkowane genetycznie, należą do szczególnych, lecz nie jedynych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca i miażdżycy tętnic.

U zwierząt domowych, najczęściej u świń i ptactwa, identyfikuje się zjawiska pierwotnej hiperlipidemii z zaburzeniami metabolicznymi, które mogą uzewnętrznić się też w postaci zmian miażdżycowych w aorcie, naczyniach wieńcowych serca, a niekiedy też mózgu (5, 7, 8, 9). U świń zdołano wykazać wyraźne powiązania przyczynowe między podwyższonym poziomem związków lipidowych w surowicy krwi, a zmianami naczyniowymi typu miażdżycowego (4, 6, 10, 11).

Przyczyną wtórnych hiperlipidemii stają się zwykle: głód, wady żywienia, dysregulacja hormonalna i immunologiczna, a także stres (12). Zatem hiperlipidemie spotykane są najczęściej w pewnych zespołach chorobowych np.: w cukrzycy, ketonemii, niewydolności wątroby, nerek, trzustki, w skazie moczanowej, intensywnym leczeniu estrogenami oraz w reakcji stresowej. W stresie napięcie trwające kilka godzin wywołuje pobudzenie układu neurohormonalnego, w którym jedno ogniwo stanowi wielokrotny wzrost we krwi poziomu amin katecholowych, drugie ogniwo — złożone zaburzenia metaboliczne. Wyrazem zaburzeń metabolicznych jest lipoliza, prowokowana udziałem noradrenaliny i lipazy lipoproteidowej, zlokalizowanych w ścianie naczyń włosowatych tkanki tłuszczowej. Wskutek tego wzrasta wysoce we krwi obwodowej poziom lipidów, zwłaszcza cholesterolu, trójglicerydów, wolnych kwasów tłuszczowych i frakcji pre- i beta-lipoproteidów (3, 12).

Niewątpliwie problem hiperlipoproteidemii jest przede wszystkim sprawą ludzi, bowiem prowadzi do miażdżycy tętnic — zawału serca lub wylewów krwi do mózgu.

Ekologiczna wspólnota, wszystkożerność, podobieństwo przemiany materii, czynności układu neurohormonalnego i in., zezwalają na porównywanie i wzajemną konfrontację analogicznych zjawisk zachodzących w ustroju ludzi i świń. Powyższy fakt przyczynił się do uznania tego gatunku zwierząt za optymalny model biologiczny w patologii porównawczej, w tym również miażdżycy tętnic (2, 4). Nadał sprawą otwartą jest zagadnienie nagłej śmierci sercowej świń. Nie można wykluczyć w przypadkach ostrej niewydolności serca, przyczynowego udziału miażdżycy

głębokich naczyń wieńcowych serca, ponieważ zmiany te zostały poznane przez wielu autorów i dostrzeżane również przez nas (7, 8, 9, 10).

W analizie zaburzeń gospodarki lipidowej u ludzi pewien ład wprowadziła prosta klasyfikacja lipoproteidemii dokonana przez Fredricksona i wsp. (1). Polega ona głównie na ocenie charakterystycznego rozkładu lipoproteidów surowicy krwi, dokonanego na poszczególne frakcje z pomocą elektroforezy na różnych podłożach, a także ultrawierowania i pomiarów densytometrycznych, w jednostkach Sf.

Hiperlipoproteidemie, w szerszym pojęciu hiperlipidemii mówią o istnieniu znamienych zaburzeń przemiany materii i wzmożonego transportu lipidów przez krew. Właśnie ich rolę, dobrze już poznaną w patologii chorób krążenia człowieka eksponuje przede wszystkim w aspekcie rokowniczym wspomniana klasyfikacja fredricksonowska.

Typ I charakteryzuje się w surowicy krwi rozdzielanej elektroforetycznie: wysokim wzrostem poziomu trójglicerydów, w postaci szerokiego pasma chylomikronów (frakcja O). Surowica zachowuje długo zmętnienie.

Typ II cechuje się wzrostem cholesterolu surowiczego i poszerzeniem pasma beta-lipoproteidów, w pomiarach gęstości zwanych LDL (Low Density Lipoproteins). W obrębie tego typu wyróżnia się jeszcze 2 podtypy, A i B. Na występowanie typu II, a niekiedy IV i V rzutuje niewydolność tarczycy.

Typ III podobnie charakteryzuje się nieprawidłowym, trudnym do rozdzielania składem frakcji lipoproteidowych, podwyższonym poziomem cholesterolu i trójglicerydów.

Typ IV odznacza się podwyższonym stężeniem trójglicerydów i szerokim pasmem frakcji pre-beta-lipoproteidów — VLDL (Very Low Density Lipoproteins). Frakcja prebeta rozdziela się na podłożu agarowym lub poliakrylamidowym na 2 podfrakcje. Podfrakcja prebeta<sub>1</sub> wskazuje na genetyczne uwarunkowanie do miażdżycy i choroby niedokrwiennej serca. Typ II i IV u ludzi najczęściej kojarzą się z chorobą wieńcową serca.

Typ V znamionuje podwyższony poziom trójglicerydów, umiarkowany cholesterolu oraz szerokie pasmo chylomikronów.

Chylomikrony zawierają w swym składzie 80—90% pokarmowych trójglicerydów, frakcja prebeta (VLDL) ok. 50% cholesterolu i 50% trój-

glicerydów syntetyzowanych endogennie, frakcja beta (LDL) od 2/4—3/4 cholesterolu endogennego, frakcja alfa (HDL — High Density Lipoproteins), najwydatniej zaznacza się w warunkach fizjologicznych.

Bogatokaloryczna dieta, zwłaszcza węglowodanowa, zmienia również skład i zawartość lipidów, przede wszystkim kwasów tłuszczowych. Np. u szczurów powstaje w lipidach wątroby deficyt nienasyconych kwasów tłuszczowych. Obniża się zatem udział egzogennych kwasów tłuszczowych, wskutek tego wzrasta poziom frakcji VLDL i LDL, w mniejszym stopniu HDL, fosfatydów i cholesterolu zestryfikowanego. U osobników z wydolną wątrobą i bez skazy metabolicznej nadmiar trójglicerydów wywołany dietą, podlega stosunkowo szybkiemu wyrównaniu. Stężenie trójglicerydów podwaja się w surowicy krwi mniej więcej wtedy, gdy kalorie pochodzące z węglowodanów przewyższą zapotrzebowanie dobowe o 40—50%.

W otyłości wynikającej z wysokiej podaży węglowodanów często brak tolerancji ustroju na obciążenie glukozą.

Obecnie przyjmuje się, że w patogenezie miażdżycy najistotniejsze ogniwo stanowi hipercholesterolemia oraz hiperpre- i betalipoproteidemia. Natomiast wzrost stężenia trójglicerydów we krwi przyczynia się szczególnie do akceleracji procesu krzepnięcia krwi.

Poprzednie badania dotyczące naturalnej miażdżycy u świń, wykazały sprzężenie i zależność aterosklerozy od metabolicznych zaburzeń związków lipidowych (6). W przedstawianym opracowaniu skierowano uwagę na sprawę hiperlipidemii i jej związku z miażdżycą naczyń wieńcowych serca oraz mózgu u świń-loch, których cykl produkcyjny dobiegł końca, w następstwie czego zostały przeznaczone na ubój.

#### Materiał i metody

Badania wstępne objęły 4 samice w wieku 5 i 6 lat rasy wbp, ciężaru ciała ok. 200 kg, pochodzących z WOPR w Kw.

Na 2 godziny przed transportem pobierano krew z żyły częściej przedniej na EDTA (kwas etyleno-2-amino-octowy) i w odwirowanym osoczu oznaczano poziom cholesterolu całkowitego (Chc), met. Lifschütza, trójglicerydów (TG), met. Carlsona i lipoproteidów (Lp), met. elektroforetyczną na podłożu bibułowym oraz agarozowym. Dalsze postępowanie metodyczne zostało podane w innych opracowaniach (6, 12). Do-

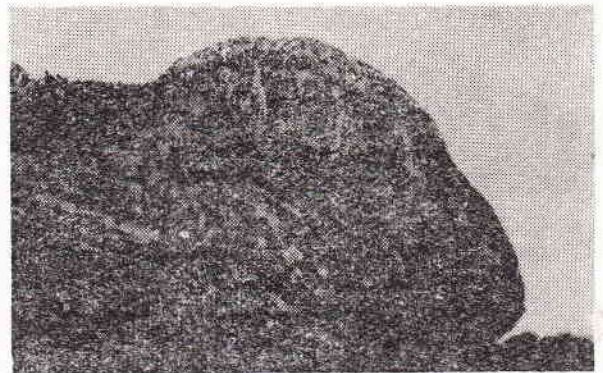
datkowo, lipidy osocza rozdzielano met. chromatografii cienkowarstwowej i pomiarów densytometrycznych — ocena analizy w toku.

Wyniki dotyczące poziomu lipidów osoczowych przedstawia tab. 1.

Izolowane serce, mózg i aortę badano makroskopowo oraz mikroskopowo, po sporządzeniu preparatów histologicznych barwionych hematoksyliną i eozyną (h.e.) oraz Sudanem III.

W porównaniu do norm fizjologicznych dla tego gatunku i rasy, uzyskanych w innych pracach (6), poziom lipidów krwi był znacznie podwyższony. Zastanowienia wymaga fakt braku prostej zależności u samic nr 3 i 4, między poziomem cholesterolu całkowitego we krwi a wielkością patomorfologicznych zmian typu miażdżycowego, zwłaszcza w naczyniach wieńcowych serca. U samic w okresie spoczynkowym zależność ta jest wprost proporcjonalna i wykazuje sprzężenie.

Podwyższenie stężenia cholesterolu całkowitego, trójglicerydów a zwłaszcza frakcji pre- i beta-lipoproteidów zezwala na zakwalifikowanie zmian w składzie lipidów krwi do typu II B, lub IV wg Fredricksona.



Ryc. 1. Ukształtowana płytka aterosklerotyczna, w obrębie błony zewnętrznej i środkowej tętnicy wieńcowej lewego ramienia zstępującego serca świni, lat 5. Barwienie h.e. pow. ok. 380 X

W preparatach sporządzonych z „serca lewego”, z warstwy głębokiej i powierzchniowej, dostrzeżono u nas po raz pierwszy u świń, typowe zmiany naturalnej miażdżycy, zlokalizowane nie tylko w głębokich tętniczkach sierdza, lecz również w ścianie wierzchniej gałęzki ramienia zstępującego, lewej tętnicy wieńcowej serca, która u ludzi należy do szczególnie uprzywilejowanych przez miażdżycę.

We wszystkich przypadkach, a zwłaszcza w 4-tym stwierdzono mikroskopowo: „necrobiosis”, kardiomiocytów, mikrozawały, obrzęk okołonaczyniowy, rozrost bliznowatej tkanki łącznej i międzywłókienkowe nacieczenie tłuszczowe. W jednym przypadku dostrzeżono obecność cew Mieschera i drobnoogniskowych na-

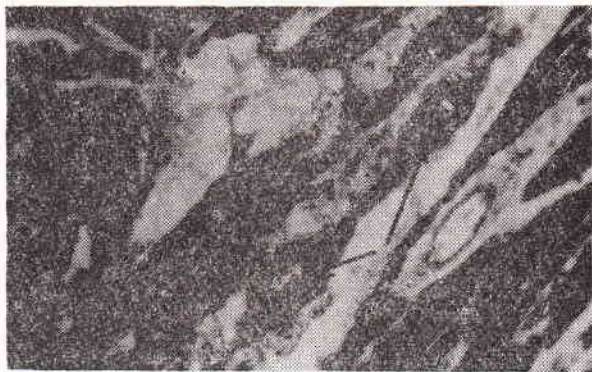
Tab. 1. Poziom lipidów osocza krwi świń i stopień morfologicznych zmian miażdżycowych w sercu, w mózgu i aorcie

Nr świni i wiek	Lipidy						Stopień zmian miażdżycowych			
	Chc w mg%	TG w mg%	frakcje lipoproteidów w %				serce		mózg	aorta
			O	pre-	beta-	alfa	r. desc. a.c. sin.	a. in- tramur.		
1 — 1.6	289,1	450,0	12	34	24	30	+-	++++	-	++++
2 — 1.6	307,2	528,0	14	27	24	35	++	++++	-	++++
3 — 1.5	156,4	382,0	15	18	22	45	+++	++++	-+	++++
4 — 1.5	198,3	401,0	11	19	20	50	++	++++	+-	++++

Objaśnienia: Chc = cholesterol całkowity; TG = trójglicerydy.

cieków komórkowych z reprezentacją granulocytów kwasochłonnych.

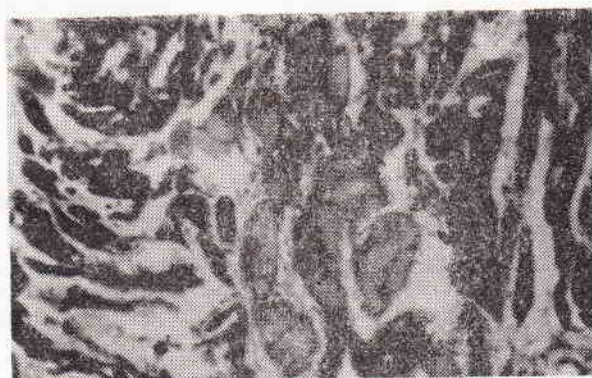
W naczyniach włosowatych mózgu, tylko u świni nr 3, zauważono zgrubienia ścian, zatarcie budowy i zwężenie światła przewodów. Zmianom tym towarzyszyły niekiedy drobne krwinkotoki i obrzęk okołonaczyniowy.



Ryc. 2. Zwężenie światła 2 naczyń głębokich układu wieńcowego serca świni, lat 5, spowodowane obecnością miażdżycowych płytek. Okołonaczyniowy i mięśniowy obrzęk w otaczającym polu.

Barwienie h.e. pow. ok. 480 ×

W odcinku brzusznej aorty przekonano się o wyraźnie zaawansowanym procesie zwyrodnieniowo-wytwórczym, charakteryzującym się obecnością typowych płytek miażdżycowych, od początkowych zmian prearteriosklerotycznych do rozwiniętych w intymie i medii blaszek, pełnych komórek piankowatych, przez to wiotkich — aterosklerotycznych oraz zagęszczonych — arteriosklerotycznych, dzięki rozrostowi włókien kolagenowych i elastycznych.



Ryc. 3. Obumieranie zespołu kardiomiocytów w następstwie mikrozawału. Obrzęk i dezintegracja w polu otaczającym.

Barwienie h.e. pow. ok. 480 ×

### Omówienie wyników

Obserwacje poczynione poprzednio oraz zanotowane obecnie potwierdzają badania autorów szwajcarskich i amerykańskich (7, 8, 10), którzy dysponowali nader starymi lochami w wieku 6—14 lat. Analizując patomorfologicznie układ sercowo-naczyniowy loch wyeksploatowanych podkreślili stałe występowanie zmian miażdżycowych w głębokich naczyniach serca.

Podobne spostrzeżenia poczynił u świń Neuman (9).

Porównując sprawę miażdżycy naczyń wieńcowych serca u ludzi i świń z występującą hiperlipidemią, nie można odrzucić u świń takich samych sprzeżeń, które u ludzi zostały dobrze poznane i udowodnione.

Nie przeprowadziliśmy badań określających u świń zależność poziomu lipidów we krwi od cyklu hormonalnego jajnika i przejaśniającego działania estrogenów. Badane zwierzęta liczyły 5—6 lat i były zdolne do rozrodu, aczkolwiek liczebność miotów spadła, co stało się przyczyną przeznaczenia ich na ubój. U tych osobników, w obrębie układu naczyniowego macicy stwierdzono wysoce rozwiniętą arteriosklerozę, upośledzającą ukrwienie rogów macicy (Koper, Kądziołka — dane nieopublikowane).

Stwierdzając u świń — samic w wieku 5—6 lat, wycofywanych z hodowli, znacznego stopnia hiperlipoproteidemię odpowiadającą typowi II B wg Fredricksona oraz wysoce rozwiniętą miażdżycę głębokich i wierzchnich naczyń wieńcowych serca, z konsekwencjami zmian wstecznych i postępowych w sierdzu, nie sposób nie myśleć o niewydolności tego narządu, jako jednej z przyczyn śmierci sercowej u świń.

### Piśmiennictwo

1. Beaumont J. L., Carlson L. A., Cooper G. R., Fredrickson S.: Biul. WHO, 891, 1970.
2. Berg R.: Anat. Anz., Bd. 115, 193, 1964.
3. Ciświcka-Sznajderman M.: Przegl. Lek. 33, 744, 1976.
4. Dahme E.: Zschr. ges. exp. Med. 145, 305, 1968.
5. Kądziołka A., Rubaj B., Nowak J.: Medycyna Wet. 8, 479, 1968.
6. Kądziołka A.: Fol. Soc. Sci. Lubl. 18, 37, 1976.
7. Luginbühl H., Ratcliffe H. L., Detweiler D. K.: Virch. Arch. Abt. A. Path. Anat. 348, 281, 1969.
8. Luginbühl H., Schnarr W. R.: Proc. Int. Symp. Richland-Washington, 19—21 July, 1965.
9. Neuman F.: Path. Biol. 20, 437, 1972.
10. Ratcliffe H. L., Redfield E.: Virch. Arch. Abt. A. Path. Anat. 357, 1, 1972.
11. Stünzi H.: Ann. N.Y. Acad. Sci., 127, 1, 740, 1965.
12. Zarów W.: Ocena równowagi lipidycznej u świń w stresie okotubojowym i po zastosowaniu relanimalu. Praca doktorska. AR Lublin 1977.

Adres autora: prof. dr Adam Kądziołka, ul. P. Tadeusza 10/84, 20-609 Lublin.

Кондзёлка А., Гонсир В. — Появление гиперлипидемии и атероматоза венечных сосудов сердца у свиней.

У свиной-самок в возрасте 5—6 лет крупной белой польской породы исследовали в крови, взятой из краниальной передней вены на EDTA, концентрацию общего холестерина, триглицеридов и липопротеидных фракций, обнаруживая их повышение на 50—100%. После забоя исследовали патоморфологически: сердце, мозг и аорту. В брюшной аорте констатировали артериосклеротические изменения различной степени развития. В сердце, в глубоких и поверхностных сосудах коронарной системы заметили присутствие типичных артериосклеротических плиток и их последствий в виде очаговых микроинфарктов и микрорубцовоизменений, кроме того оксососудистых отеков и интерстициальных жировых инфильтраций. В мозгу степень интенсивности изменений была незначительной.

Заметили связь между гиперлипидемией и атеросклерозом, а также зависимость поврежденных изменений сердца, как результата непосредственных последствий метаболических нарушений.

Kądziołka A., Gašior W. — **Hyperlipoproteinaemia and atherosclerosis of coronal vessels in pigs.**

In the blood of pigs, age 5—6 years, the concentration of total cholesterol, triglycerides and lipoproteins fractions were examined. Their levels were elevated at 50—100 per cent. Post mortem the heart, brain and aorta were assayed. The atherosclerotic changes of different

degrees were found in the abdominal aorta. In the deep and superficial coronal vessels of the heart the presence of typical atherosclerotic plaques and microischemia, microinfarctions, oedema around the vessels, and interstitial fat infiltration was noticed. In the brain the lesions were of little significance. There was a relationship between hyperlipoproteinaemia and atherosclerosis, and also the dependence between heart hurts and the degree of metabolic disturbances.

KRZYSZTOF WALAWSKI, BOGUSŁAWA GLOGOWSKA, EWA KACZMARCZYK,  
GALINA KOLMAN, ZENONA KRUK

## Analiza zależności między polimorfizmem i aktywnością alkalicznych fosfataz w surowicy krwi i leukocytach bydłęcych\*)

Z Instytutu Genetyki i Metod Doskonalenia Zwierząt AR-T w Olsztynie

Alkaliczna fosfataza u ludzi i zwierząt wykazuje zróżnicowanie aktywności w zależności od płci, wieku, zaawansowania ciąży, laktacji oraz wpływu różnych czynników środowiskowych (1, 2, 3, 5, 7, 8). Aktywność tego enzymu w surowicy krwi jest wskaźnikiem diagnostycznym zaburzeń wzrostu i rozwoju, zmian nowotworowych kości oraz stanów patologicznych, przejawiających się żółtaczką mechaniczną (2, 3, 9, 12).

Występujące u bydła formy molekularne alkalicznej fosfatazy warunkowane są parą allelicznych genów autosomalnych. Gen dominujący determinuje obecność frakcji wykrywanej w surowicy krwi w strefie alfa-globulin, natomiast gen recesywny przejawia się brakiem frakcji o najszybszym tempie migracji (4, 13).

Badania Gahnego (4) przeprowadzone na 40 parach bliźniąt wskazały na genetyczne uwarunkowanie wysokiej aktywności tego enzymu. Wyniki te zostały potwierdzone przez Walawskiego i wsp. (13) na dużym materiale, obejmującym ponad 1000 krów w różnym wieku. Stwierdzono ścisły związek między polimorfizmem i aktywnością. Zwierzęta z genem dominującym charakteryzowały się średnią aktywnością 155,7 IU, natomiast homozygoty recesywne zaledwie 55,1 IU. Ponad 30% osobników przekraczało zakres zmienności  $\bar{x} \pm 2s$ , uznawany za normę fizjologiczną. W krańcowych przypadkach aktywność alkalicznej fosfatazy u zwierząt z genem dominującym przewyższała średnią obliczoną dla całej populacji o 40—70 jednostek odchylenia standardowego.

Określenie zależności między genetycznie warunkowanym polimorfizmem i aktywnością stwarza realne możliwości kształtowania zmienności enzymu w populacjach hodowlanych.

Praktyczne wykorzystanie stwierdzonych dotychczas prawidłowości wymaga jednak wszechstronnego rozpatrzenia wpływu wysokiej i niskiej aktywności alkalicznych fosfataz na przebieg procesów metabolicznych, decydujących o stanie zdrowia, odporności i wydajności zwierząt.

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań nad zróżnicowaniem aktywności alkalicznych fosfataz w leukocytach, jej związku z polimorfizmem i aktywnością w surowicy krwi oraz liczbą leukocytów i procentowym udziałem limfocytów.

### Materiał i metody

Badaniami objęto 532 krowy-pierwiastki, pochodzące z czterech dużych stad bydła rasy nizinnej czarno-białej. Próbkę krwi pobierano z żyły jarzmowej w ilości około 10 ml, stosując heparynę jako środek zapobiegający krzepnięciu.

Badania polimorfizmu prowadzono metodą elektroforezy poziomej na żelu skrobiowym (11). Wprowadzono szereg własnych modyfikacji, łączących elementy elektroforezy klasycznej i cienko-warstwowej (13).

Liczbę leukocytów określano w komorze Bürkera. Badania leukogramów obejmowały obliczenie procentowego udziału limfocytów. Limfocyty barwiono metodą Pappenheima. Stosowano roztwory May-Grünwalda i Giemzy (6).

Leukocyty izolowano wykorzystując różnice w ciśnieniu osmotycznym białych i czerwonych komórek krwi. Po odwirowaniu krwi i ściągnięciu surowicy, do krwinek dodawano 0,85% roztwór  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , dokładnie mieszano i wirowano przy 3000 obr./min. Czynności te powtarzano 2—3-krotnie ściągając każdorazowo hemolizat pompką wodną. Wyizolowane leukocyty przemycano fizjologicznym roztworem  $\text{NaCl}$ . Po odwirowaniu płyn z nad osadu komórek zlewano a leukocyty wraz z niewielką ilością płynu fizjologicznego wciągano do kalibrowanych pipet. Wyloty pipet zaklejano, a następnie pipety wraz z zawartością wirowano przez 5 minut przy 3000 obr./min. Objętość leukocytów odczytywano na skali, a następnie zawartość pipety usuwano wymuchując leukocyty wraz z płynem fizjologicznym do wcześniej przygotowanych próbek, zawierających od-

\*) Praca wykonana w ramach Problemu Międzyresortowego MR-II/9, koordynowanego przez Polską Akademię Nauk.