

Clinica medicală nr. 1 (cond.: prof. dr. P. Dóczy, doctor-docent, medic emerit.,  
membru al Academiei de științe medicale) din Tîrgu-Mureș

## **RELAȚIA DINTRE TROMBOCITE ȘI LIPIDELE PLASMATICE ÎN ATEROSCLEROZĂ**

### **I. Fagocitarea unor lipide plasmaticе de către trombocite în hiperlipemia provocată prin ingerare**

dr. C. *Dudea*, dr. E. *Kifor*, dr. Eva *Kótay*, dr. Magdalena *Zakariás*,  
dr. Paraschiva *Simon*

Cercetările efectuate cu microscopul electronic au demonstrat că trombocitele fagocitează în mod obligatoriu diferite particule, proprii sau străine organismului, ajunse în plasma sanguină. Astfel, particulele de

torotrast, cărbune, bioxid de siliciu sau cele de latex, introduse în circulație sau în mediul trombocitelor izolate, ca și complexe de antigen-anticorp, diferitele proteine plasmatică, virusurile și lipidele existente sau apărute în plasma sanguină sînt rapid fagocitate de către trombocitele circulante (2, 3, 6, 8, 9, 10).

Procesul de fagocitare este important nu numai din motivul că face parte dintr-un sistem de apărare a organismului, dar și prin faptul că aceste procese sînt strîns legate de degranularea celulelor participante (14). Eliberarea componentilor granulelor în mediul extracelular prin degranulare declanșează la rîndul său o serie de alte fenomene consecutive, care se petrec de regulă la nivelul subcelular sau chiar molecular și care se manifestă în țesuturi ca proces de inflamație (5, 11). În condițiile existente în sîngele circulant, degranularea se manifestă prin modificarea coagulabilității singelui (4, 6, 13). Hipercoagulabilitatea plasmei sanguine produsă în anumite faze ale lipemiei alimentare este un fenomen bine cunoscut (7, 9). Microscopia electronică a mai pus în evidență în timpul hiperlipemiei alimentare microembolii circulante compuse din trombocite degranulate conținînd picături de lipide fagocitate, din granule alfa eliberate pe suprafața trombocitelor, din picături de lipide și fibre de fibrină (7, 9, 12). Aceste observații subliniază faptul că fagocitarea lipidelor declanșează activarea procesului de hemostază și la nivel celular. Dacă microemboliile circulante se fixează pe suprafața endoteliului vascular lezat sau nealterat, microemboliile fixate se transformă în microtrombi parietali, determinînd apariția leziunilor vasculare endoteliale sau subendoteliale tardive, eventual complicații acute sau subacute.

Din aceste date rezultă că lipidele, datorită fagocitării lor de către trombocitele și granulocitele circulante, precum și de celulele sesile ale sistemului RE, declanșează degranularea trombocitelor și alte modificări în starea lor. Pe baza acestor considerente, am studiat efectul lipemiei alimentare asupra activității de fagocitare și asupra schimbărilor calitative și cantitative ale trombocitelor circulante. În lucrarea de față prezentăm o parte din rezultatele noastre privind efectul lipidelor ingerate asupra cantității de lipide existente în trombocitele circulante și asupra modificărilor cantitative ale trombocitelor existente în sîngele circulant.

### *Material și metodă*

La un număr de 24 pacienți cu ateroscleroză s-a provocat o hiperlipemie alimentară prin administrarea unui prînz de probă conținînd: 50 gr unt și 50 gr smîntînă. Din sîngele recoltat à jeun și la o oră după consumarea lipidelor, au fost izolate trombocitele (9) și homogenizate cu Triton  $\times$  100. Homogenizarea cu Triton  $\times$  100 0,1%, adăugat în proporție de 10% la suspensia de trombocite spălate durează 15 minute, la temperatura camerei. Din homogenizatul obținut s-a dozat cantitatea proteinelor prin metoda Folin—Lowry, precum și cantitatea lipidelor totale, a colesterolului, a acizilor grași neesterificați și cantitatea trigliceridelor. Pentru blocarea proceselor biochimice care ar putea influența cantitatea lipidelor în homogenizat și pentru o mai bună dezintegrare a structurilor subcelulare, o cantitate adecvată de homogenizat, repartizată în eprubete mici s-a

amestecat cu eter-alcool (1:3), care s-a evaporat în baie de apă fierbinte. Pentru determinarea lipidelor totale în homogenizat, am utilizat metoda lui Zöllner și Kirsch. În acest scop, 0,5 ml homogenizat trombocitar este tratat în modul amintit cu eter-alcool, reziduul se reia în 0,5 ml acid sulfuric și se amestecă cu 2 ml reactiv fosfo-vanilic. După apariția reacției de culoare, probele, martorul și standardul, se citesc la spectrofotometru. Cantitatea trigliceridelor și a acizilor grași neesterificați s-a determinat cu setul de reactivi Haury, iar cantitatea colesterolului cu setul Boehringer. Numărul trombocitelor circulante, înainte și la diferite intervale de timp după administrarea lipidelor, s-a determinat prin numerotare în camera Bürker, folosind în acest scop contrastul de fază.

### *Rezultate și discuții*

Rezultatele investigațiilor noastre privind cantitatea lipidelor totale, a colesterolului, a acizilor grași neesterificați și cantitatea trigliceridelor, înainte și la o oră după consumarea lipidelor alimentare, sînt trecute în tabelul nr. 1. Rezultatele sînt exprimate în mg/100 mg proteine trombocitare din homogenizat, respectiv cantitatea acizilor grași neesterificați, este exprimată în  $\mu\text{mol/l}$  în homogenizat trombocitar cu un conținut de 1 g proteine l. Astfel, datele obținute sînt comparabile. Din rezultatele obținute reiese că la o oră după consumarea prînzului de probă, care conține lipide, cantitatea lipidelor trombocitare prezintă o creștere. Se remarcă în mod deosebit creșterea cantității acizilor grași neesterificați și a cantității trigliceridelor din trombocite. Datorită faptului că lipidele administrate au un conținut minim de colesterol, nu este de așteptat o schimbare mai importantă a cantității de colesterol în trombocite.

Rezultatele obținute de noi corespund observațiilor morfologice efectuate cu microscopul electronic, conform cărora la o oră după consumarea lipidelor alimentare, în cca 30% din trombocitele circulante apar picături de lipide endocitate, iar la 4 ore mărimea acestor picături crește și lipidele apar în cca 70% din trombocitele circulante. Mai tîrziu, în trombocitele circulante apar formațiuni mielinice, similare cu cele din trombocitele bolnavilor care suferă de hiperlipemie esențială, indicînd transformarea lipidelor fagocitate în interiorul trombocitelor (9).

Concomitent cu creșterea cantității lipidelor în trombocitele circulante, apar și modificări ale numărului de trombocite circulante. Astfel, la 30 de minute după consumarea lipidelor, numărul trombocitelor circulante scade semnificativ (fig. 1), la o oră după consumarea lipidelor numărul trombocitelor circulante se apropie din nou de valorile inițiale, după care apar oscilații numerice de amplitudine mai mică. Diminuarea numărului de trombocite la 30 de minute după consumarea lipidelor este atribuită acizilor grași conținînd un număr de 8—12 atomi de carbon, existenți în cantități mari în unt și smîntînă. Efectul imediat se explică prin descompunerea rapidă a esterilor acizilor grași conținînd un număr mediu de atomi de carbon. Acești esteri se descompun în duoden în proporție de 60% la numai 10 minute după ingerare. Resorbția lor este de asemenea foarte rapidă. Spre deosebire de acizii grași cu un număr de 16—18 atomi de carbon, care după resorbția lor pătrund în circulație prin sistemul limfatic, acizii grași conținînd un număr de 8—12 atomi de carbon apar în vena portă și declanșează diminuarea numărului de trombo-

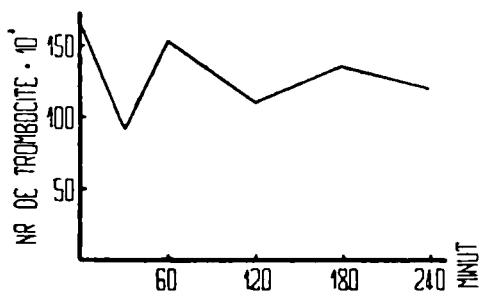
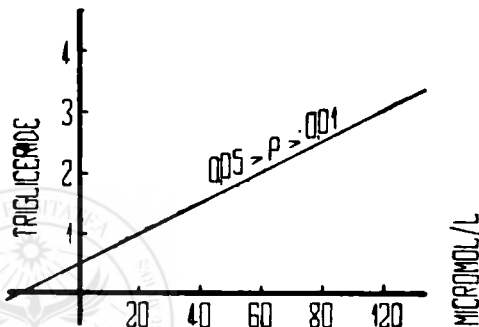


Fig. nr. 1: Modificarea numărului de trombocite circulante în cursul hiperlipemiei provocate prin ingestarea de unt și smântână.

Fig. nr. 2: Corelația dintre modificările cantității de acizi grași liberi și a trigliceridelor din trombocite în cursul hiperlipemiei provocate prin ingestie.



cite circulante (7). La o oră după consumarea lipidelor se observă o restabilire a numărului de trombocite circulante, datorită probabil mobilizării trombocitelor din diferite „rezerve“.

Având în vedere particularitățile resorbției acizilor grași conținând 8—12 atomi de carbon și efectul lor asupra numărului de trombocite circulante, s-a analizat relația existentă între cantitatea lipidelor fagocitate și modificarea numărului de trombocite. La 12 cazuri, scăderea numărului de trombocite circulante la 30 de minute de la ingerarea lipidelor este urmată de o restabilire parțială a acestui număr la o oră după consumarea prinzului de probă. La acest grup de pacienți, creșterea cantității de lipide trombocitare la o oră după consumarea lipidelor este mai mare decât valoarea medie la o oră de la ingestie, calculată pe întregul lot studiat (24 de cazuri). Se remarcă creșterea semnificativă a cantității acizilor grași neesterificați și a cantității trigliceridelor în trombocite (tabelul nr. 2). La grupul al doilea de bolnavi, după o oră de la consumarea lipidelor, numărul trombocitelor circulante depășește valoarea inițială. Oscilațiile numărului de trombocite la acest lot sînt mai reduse, iar modificările privind cantitatea lipidelor trombocitare sînt nesemnificative (tabelul nr. 1). Fenomenul s-ar putea explica prin posibilitatea că la acest lot mobilizarea trombocitelor din rezerve trombocitare diluează populația de trombocite circulante care conțin lipide fagocitate și din acest motiv nu apar deosebiri semnificative privind cantitatea lipidelor înainte și la o oră după consumarea lipidelor. Deși explicația este plauzibilă, remarcăm faptul că

Tabelul nr. 1

Cantitatea lipidelor totale, a acizilor grași neesterificați, a trigliceridelor și a colesterolului în trombocite, recoltate înainte și la o oră după administrarea lipidelor alimentare, raportate la 100 mg proteine din homogenizat trombocitar.

		Lipide totale mg/100 mg proteine	Acizi grași neesterifi- cați, $\mu$ mol/l	Trigliceride mg/100 mg proteine	Colesterol mg/100 mg proteine
Numărul cazurilor		24	24	24	14
Valori obținute înainte de consu- marea lipidelor	X	28,07	75,0	8,58	4,63
	DS	15,58	44,0	5,80	3,53
	ES	3,32	9,0	1,22	0,98
Valori obținute la o oră după consumarea lipi- delor	X	32,22	106,0	10,08	4,65
	DS	16,65	74,0	6,04	2,89
	ES	3,55	15,0	1,28	0,80

Tabelul nr. 2

Cantitatea lipidelor trombocitare înainte și la o oră după consumarea lipidelor alimentare, în trombocitele pacienților la care la o oră după ingerarea lipidelor numărul trombocitelor circulante nu atinge valoarea inițială (A), precum și la pacienții la care numărul trombocitelor circulante depășește valoarea inițială (B).

		Lipide totale mg/100 mg proteine		Acizi grași nesaturați $\mu$ mol/l		Trigliceride mg/100 mg proteine	
		înainte.	după consum.	înainte.	după consum.	înainte.	după consum.
A	n	14	14	14	14	14	14
	X	23,85	32,13	61,00	113,00	7,44	10,16
	D.S.	11,52	16,69	32,90	96,70	3,62	4,54
	E.S.	3,32	4,82	9,90	29,10	1,06	1,30
B	n	10	10	10	10	10	10
	X	33,09	32,28	87,80	96,30	8,88	8,48
	D.S.	18,91	16,03	48,00	50,80	7,26	6,70
	E.S.	5,98	5,07	15,30	16,00	2,30	2,12

la acest lot valorile inițiale ale cantității lipidelor trombocitare sînt mari decît la primul grup (tabelul nr. 2). Această observație sugerează posibilitatea că trombocitele conținînd cantități mai mari de lipide au o capacitate de fagocitare diminuată.

Modificările apărute în cantitatea acizilor grași neesterificați și în

cantitatea trigliceridelor trombocitare la o oră după consumarea lipidelor sînt în corelație pozitivă semnificativă (fig. 2). Această corelație indică faptul că trigliceridele și acizii grași sînt endocitați în proporții determinate. Fără să excludem posibilitatea existenței unor mecanisme separate pentru endocitarea trigliceridelor și a acizilor grași, trebuie să afirmăm că în cursul hiperlipemiei alimentare aceste substanțe sînt endocitate cu aceeași viteză.

În ultimii ani s-a precizat rolul fagocitării în diferite procese fiziologice și patologice. În prezent este în general acceptat rolul deosebit al fagocitării (endocitarea) în resorbția, transportul, metabolizarea și depozitarea lipidelor (9, 11). S-a conturat, de asemenea rolul acestui proces în generarea leziunilor vasculare (1). Cu toate că intervenția leucocitelor în resorbția și transportul lipidelor este cunoscută mai de mult, rolul altor formațiuni celulare în fagocitarea lipidelor plasmatică a fost relativ recent recunoscut. Astfel se admite că celulele sistemului RE au un rol deosebit în „clearance-ul” lipidelor plasmatică. Din datele literaturii de specialitate și din rezultatele noastre reiese că și trombocitele circulante fagocitează lipidele apărute în plasma sanguină.

Procesul de fagocitare a lipidelor de către trombocite are corelații importante cu alte funcții celulare și cu modificări din mediul extracelular, aceste aspecte depășind însă cadrul lucrării de față.

*Sosit la redacție: 17 ianuarie 1974.*

#### Bibliografie

1. Dudea C., Kifor I.: Rev. Med. (1973), 4, 357; 2. Glynn M. F. și colab.: J. Clin. Lab. Med. (1965), 65, 179; 3. Haguenauf F. și colab.: J. Microscopie (1963), 2, 529; 4. Horowitz H. I., Spielvogel A. R.: in Bang N. U.: Thrombosis and Bleeding Disorders, Georg Thieme Verlag Stuttgart, Acad. Press New York — London, 1971, 412; 5. Movat H. Z.: in Movat H. Z.: Inflammation immunity and hypersensitivity, Harper — Row, New York — Evanston — San Francisco — London, 1971, 1; 6. Mustard J. F., Packham M. A.: in Movat H. Z.: Inflammation immunity and hypersensitivity, Harper — Row, New York — Evanston — San Francisco — London, 1971, 527; 7. Fleiderer Th., Morgenstern E.: in Schettler G.: Platelets and Vessel Wall — Fibrin Deposition, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1970, 79; 8. Schulz H.: Folia Haemat. (Frankfurt) (1961), 5, 195; 9. Schulz H.: Thrombozyten und Thrombose im elektronmikroskopischen Bild. Springer Verlag, Berlin — Heidelberg — New York, 1968; 10. Schulz H., Landgraber E.: Klin. Wschr. (1966), 44, 998; 11. Straus W.: in Roodyn B. D.: Enzyme Cytologie. Acad. Press London — New York, 1967, 239; 12. Weber E., Morgenstern E., Pfleiderer Th.: in Schettler G.: Platelets and the Vessel Wall — Fibrin Deposition, G. Thieme Verlag, Stuttgart, 1970, 71; 13. Wessler S., Stehlens W. E.: in Bang N. U.: Thrombosis and Bleeding Disorders, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Acad. Press New York — London, 1971, 488; 14. Weissmann G., Dukor P., Zurier R. B.: Nature New Biol. (1971), 231, 131.