

REZUMATUL

Tezei de doctorat cu titlul

Inducerea unor entități morbide de natură metabolică la animalele de laborator prin folosirea dietelor speciale

elaborată de drd. Ene VLASE

Cuvinte cheie: diabet zaharat, ateroscleroză, diete speciale, șoarece, șobolan.

Teza de doctorat este structurată clasic, în Partea I, atribuită prezentării teoretice, și Partea II, destinată cercetărilor proprii. Partea I este precedată de o Introducere, în care este prezentată problematica în domeniul temei propuse, acela al modelelor animale experimentale pentru studiul diabetului zaharat și la aterosclerozei.

În Partea I autorul face o prezentare aproape exhaustivă a stadiului actual al datelor din literatură privind:

- metabolismul și fiziopatologia tulburărilor metabolice ale fructozei și glucozei;
- diabetul zaharat;
- caracterizarea generală, absorbția și metabolismul lipidelor;
- fiziopatologia metabolismului lipidelor la animale;
- fiziopatologia rezistenței la insulină și a diabetului de tip 2 induse de obezitate.

Partea I se încheie cu un capitol privitor la folosirea modelelor animale și a modelelor dietetice (diete naturale și diete purificate) în studiul diferitelor afecțiuni metabolice.

Partea II a tezei, dedicată cercetărilor proprii, începe cu capitolul Material și metode în care sunt descrise modelele animale utilizate, compoziția dietelor purificate utilizate, metodele de lucru precum și managementul experimentelor.

Partea II continuă cu Capitolul Rezultate și discuție, care cuprinde două mari subcapitole:

1. Rezultate și discuție privind reproducerea experimentală a sindromului hiperglicemic prin folosirea dietelor speciale la șoareci și șobolani.

În cadrul acestui subcapitol sunt prezentate rezultatele și se face discuția acestora în urma hrănirii experimentale a două loturi, de șoareci și, respectiv, șobolani timp de 93 zile cu o dietă purificată îmbogățită în fructoză 60% realizând un procent de 68% glucide, comparativ cu loturi martor aferente hrănite cu o dietă standard (AIN-93M).

Au fost monitorizate efectele asupra consumului de furaje, greutatea corporală, parametrilor morfologici ai sângelui (număr de eritrocite, hemoglobină, hematocrit și parametrilor eritrocitari derivați, leucograma, parametri biochimici ai sângelui (glucide, lipide, colesterol), enzimele metabolice sanguine (ALT, AST, γ GT, ALP și LDH), greutatea unor organe interne și efectele asupra structurii histologice a diferitelor organe interne.

Consumurile medii de furaj au fost mai scăzute față de martorii aferenți, scăderea fiind mai mare la șobolan. Cauza acestui consum mai redus al loturilor experimentale ar putea fi aceea a palatabilității hranei dar poate fi și un corolar al modificărilor metabolice ale excesului de fructoză.

Evoluția ponderală a animalelor a prezentat o evoluție descendentă, previzibilă având în vedere consumurile de hrană. Diferențele dintre loturi au devenit semnificative statistic mai târziu la șoareci (27 zile) față de șobolani (21 zile de hrănire experimentală). Evoluția ponderală negativă a loturilor experimentale este explicată de consumul mai redus de furaj dar și de modificările metabolismului intermediar induse de excesul de fructoză, centrate în primul rând pe mobilizarea și consumul de lipide, care ar subclasa efectele lipogenice ale fructozei

Aplicarea experimentală a recepturii îmbogățite în fructoză nu a afectat semnificativ parametrii eritrocitari, exceptând scăderea conținutului în hemoglobină (și modificarea parametrilor eritrocitari aferenți (HEM, CHEM), explicată doar de modificările metabolice generale induse de excesul de fructoză.

Numărul de leucocite a crescut atât la șoarece cât și la șobolan. Aceste creșteri ale numărului total de leucocite sunt realizate pe seama creșterii procentului de neutrofile. Aceste efecte asupra numărului total de leucocite s-au suprapus pe fondul tulburărilor de metabolism.

Aplicarea dietei cu conținut ridicat de fructoză a determinat creșterea glicemiei. Această creștere a devenit însă semnificativă relativ târziu, în cea de-a doua parte a perioadei experimentale, respectiv după primele 39 zile de dietă. Creștera finală a glicemiei s-a cifrat la 46,89% la șoareci și la 62,29% la șobolan.

Analiza evoluției nivelului trigliceridelor a relevat creșteri semnificative deja după 39 zile de administrare a dietei experimentale, creșteri mai accentuate la șobolani ($P < 0,001$) decât la șoareci ($P = 0,011$). Faptul că în experimentul nostru s-a obținut o creștere semnificativă a nivelului trigliceridelor serice atât la șoarece cât și la șobolan poate fi atribuit unei intensificări a sintezei hepatice de novo prin excesul de fructoză.

Nivelul plasmatic sanguin al colesterolului a crescut semnificativ de la momentul zero al experimentului la 93 zile dar nesemnificativ față de martorii aferenți fiecărui lot.

Activitatea transaminazelor serice s-a dublat sau chiar triplat, în majoritatea cazurilor, creșterile fiind mai accentuate la șoarece decât la șobolan. Curba de evoluția a nivelului

fosfatazei alcaline a început să se modifice de cea a martorului deja la 39 de zile de hrănire experimentală: faptul relevă o mai mare sensibilitate a acestei enzime în monitorizarea stării de sănătate a ficatului. Activitatea LDH a prezentat particularități de specie, fiind mai ridicată la șobolan decât la șoarece, remarcându-se printr-un grad mai ridicat de sensibilitate.

Monitorizarea evoluției greutății unor organe (ficat, rinichi, splină, cord, pancreas și creier) a relevat faptul că la ambele loturi experimentale, șoareci și șobolani, greutatea ficatului este mai ridicată decât a martorilor corespunzători. Greutatea celorlalte organe analizate nu difieră semnificativ față de cea a martorului, fiind chiar mai redusă decât a acestuia.

Privitor la testul de toleranță la glucoză, după 39 zile de hrănire experimentală cu dieta îmbogățită în fructoză se remarcă o variabilitate a reacțiilor individuale, cu nivele maxime de 210 - 215 mg·dL⁻¹, atinse mai târziu la șobolan (T30) decât la șoarece (T15), nivele maxime mai ridicate decât la șoarecii și șobolanii normali, dar cu păstrarea capacității de revenire a glicemiei la valorile normale fiecărei specii după 120 min. de la administrarea soluției de glucoză.

La sfârșitul perioadei experimentale, testul de toleranță la glucoză a prezentat următoarele particularități:

- nivelul glicemiei à jeune a fost peste valorile normale (circa 150 mg·dL⁻¹);
- peak-ul hiperglicemic este atins la T30: 360 – 400 mg·dL⁻¹ ;
- revenirea glicemiei se face după o curbă mai lentă, la T120 valorile fiind cifrate între 275 și 300 mg·dL⁻¹, mai scăzute la șoarece;
- la T150 valorile glicemiei sunt încă deasupra celor à jeune, mai scăzute la șoarece (225 mg·dL⁻¹) și mai ridicate la șobolan (280 mg·dL⁻¹).

Modificări la nivel microscopic au fost cercetate pe probe de țesut renal, cardiac, splenic, și pancreatic, atât la șoareci cât și la șobolani. Într-o apreciere de ansamblu, modificările sunt în majoritate nesemnificative, apărând cu o frecvență rară și amplitudine redusă. Cu o frecvență și cu o amplitudine mai ridicate au fost: degenerescența steatozică a ficatului, hiperemii, microhemoragii pancreatice, renale și hepatice, edeme și infiltrate pancreatice interlobulare, ectazia și formarea de cilindri hialini (renali), fără diferențe semnificative de specie.

2. Rezultate și discuție privind inducerea aterosclerozei la șoarece și șobolan prin folosirea dietelor speciale.

În cazul dietelor cu adaos de colesterol în proporție de 1% și acid colic 0,5% consumul de furaje al loturilor experimentale a evoluat din nou sub cel al martorilor aferenți. Cauze incriminabile: lipsa de palatabilitate a hranei și eventual efectele induse de către surplusul de colesterol asupra metabolismului intermediar și în consecință asupra întregii stări de sănătate a animalelor.

Atât greutatea lotului experimental de șoareci cât și cea a lotului experimental de șobolani au evoluat sub nivelul martorului respectiv. Practic, animalele au slăbit în condițiile în care loturile martor au câștigat în greutate. Faptul este în corelație cu consumul de furaj, relevat mai sus.

Numărul de eritrocite a scăzut pe perioada hrănirii experimentale cu dieta pe bază de colesterol. Această scădere a fost mai accentuată în intervalul 0 - 39 zile decât în următorul interval, 40 - 93 zile.

Numărul de leucocite a crescut pe durata hrănirii experimentale, fapt realizat pe baza creșterii procentului de neutrofile. Creșterea numărului de leucocite pe seama neutrofilelor este în oarecare măsură fiziologică dar ea a fost însă accelerată de dieta cu colesterol.

Colesterolul total au crescut semnificativ statistic deja la 39 de zile de la începutul administrării dietei cu colesterol și după această etapă, până la 93 de zile, ilustrând în primul rând eficacitatea dietei experimentale. Șobolanul s-a dovedit a fi o specie mai sensibilă decât șoarecele în sensul realizării unor valori sanguine ale colesterolului mai mari față de șoarece, și cu diferențe mai mari față de martor.

Lipidele totale au prezentat o creștere a nivelului plasmatic sanguin la ambele specii.

Activitatea ALT, AST și γ GT a prezentat creșteri semnificative statistic de la momentul zero al duratei experimentului la 93 zile de hrănire experimentală. Au fost constatate diferențe interspecii (între șoarece și șobolan) privitoare doar la activitatea γ GT. Cea mai mare creștere a activității a prezentat-o GPT la șoarece, iar cea mai mică intensificare a activității a prezentat-o γ GT la șobolan.

Activitatea ALP a crescut semnificativ ($P < 0,001$) față de valoarea inițială încă din primele 39 zile de hrănire experimentală. Marea sensibilitate a nivelului acestei enzime face ca determinarea nivelului acesteia să poată fi utilizat ca marker al stării preateromatoase.

Aplicarea dietei cu colesterol a indus după 93 zile de hrănire experimentală creșterea semnificativă ($P < 0,001$) a masei hepatice atât la șoareci cât și la șobolani. Nu au fost constatate însă creșteri semnificative ale masei cardiace și nici ale celei renale ($P > 0,05$).

Analiza histologică a evidențiat leziuni la animalele din loturile experimentale atât în vasele mari (aortă) cât și la nivelul unor organe parenchimatoase (ficat, pancreas, splină, cord și rinichi), după cum urmează. La nivelul aortei au predominat deformări neuniforme ale peretelui, cu îngroșări ale intimei și mediei datorită blocării absorbției colesterolului. La nivel hepatic au predominat leziuni de degenerescență lipidică severă cu hiperemie, steatoză exolobulară și vacuolizări. La nivel cardiac au fost constatate infiltrații lipidice subepicardice, interfibrilare și intercelulare, cu hiperemie și hialinizări ale miocardiocitelor. La nivel renal au fost constatate

hialinizări tubulare, hemoragii interstițiale, degenerescență și vacuole lipidice în celulele epiteliale din structura tubilor contorți.

Următorul capitol din Partea II este dedicat concluziilor generale.

Teza se încheie cu un număr de 182 referințe bibliografice citate în text.