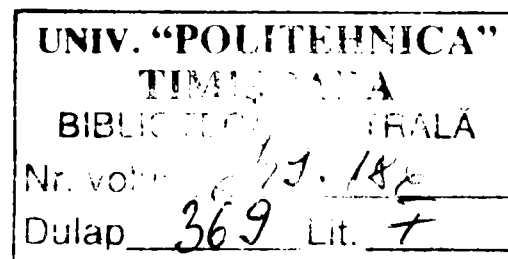


Ing. Aumüller Corina

TEZĂ DE DOCTORAT

**Investigații asupra unor fracțiuni
lipidice și lipoproteinice serice
în perioada de adolescență**



**Conducător științific:
Prof. Dr. Zeno Gârban**

2006

C U P R I N S

Prefață	1
Introducere	3
1. Probleme fundamentale ale biochimiei statice și dinamice a lipidelor ..	5
1.1. Considerații generale	5
1.2. Lipidele și lipoproteinele – bioconstituenți ai organismului	6
1.2.1. Privire sinoptică	6
1.2.2. Structura chimică a lipidelor și lipoproteinelor	11
1.2.2.1. Precursori structurali	11
1.2.2.1.1. Acizii grași	12
1.2.2.1.2. Compușii hidroxilici	13
1.2.2.2. Structura chimică a lipidelor	17
1.2.2.2.1. Lipidele simple	18
1.2.2.2.2. Lipidele complexe.....	21
1.2.2.3. Structura chimică a lipoproteinelor	24
1.2.2.3.1. Structura lipoproteinelor	25
1.2.2.3.2. Activitatea biologică	27
1.2.2.3.3. Reprezentanți. Importanța	27
1.3. Lipidele în biochimia dinamică	30
1.3.1. Biodegradarea lipidelor	30
1.3.1.1. Biodegradarea lipidelor simple	30
1.3.1.1.1. Biodegradarea acilgliceridelor	30
1.3.1.1.2. Biodegradarea steridelor	32
1.3.1.2. Biosinteza lipidelor	33
1.3.1.2.1. Biosinteza acilgliceridelor	33
1.3.1.2.2. Biosinteza steridelor	36
1.4. Lipidele în nutriție și chimia alimentară	40
1.4.1. Principii nutritive lipidice	41

1.4.2. Digestia și absorbția lipidelor	42
1.4.2.1. Digestia lipidelor	42
1.4.2.2. Absorbția lipidelor	44
1.4.3. Distribuția lipidelor în produse de interes alimentar	45
2. Importanța studiului lipidelor în chimia clinică și patologia	
biochimică	49
2.1. Considerații generale	49
2.2. Metode de investigare a lipidelor în biochimie și chimia clinică	50
2.2.1. Investigații de laborator pentru lipide și fracțiuni lipidice	50
2.2.1.1. Metode de identificare a lipidelor	50
2.2.1.2. Metode de dozare a lipidelor	51
2.2.2. Investigații de laborator pentru lipoproteine	54
2.2.2.1. Separarea electroforetică a lipoproteinelor serice	54
2.2.2.2. Statusul serumlipoproteinelor	55
2.3. Particularități ale metabolismului lipidic în perioada de adolescență	58
2.3.1. Privire sinoptică	58
2.3.2. Metabolismul și cronobiologia	58
2.4. Rolul investigațiilor biochimice în prevenirea dislipidemiilor	61
2.4.1. Privire sinoptică	61
2.4.2. Caracteristici ale dishomeostaziei biochimice în hiperlipidemii	63
2.4.3. Caracteristici ale dishomeostaziei biochimice în hipolipidemii	66
2.5. Particularități ale alimentației în perioada de adolescență	67
2.5.1. Alimentația copilului școlar	67
2.5.2. Alimentația adolescentului	68
2.6. Dezechilibre ale homeostaziei biochimice prin hiperconsum	
de alimente	69
2.6.1. Excesul de macronutrienți lipidici	70
2.6.2. Excesul de macronutrienți glucidici	72
2.6.3. Excesul de nutrienți energogeni	74
3. Contribuții la investigarea statusului homeostaziei biochimice	
sanguine a unor fracțiuni lipidice și lipoproteinice	77
3.1. Considerații generale	77
3.2. Eșantionarea subiecților pentru investigații	82
3.3. Prelevarea probelor pentru analize	86

3.4. Metodele de determinare a fracțiunilor lipidice și lipoproteinice	
luate în studiu	87
3.4.1. Determinarea triacilgliceridelor serice.....	88
3.4.2. Determinarea colesterolului total	89
3.4.3. Determinarea HDL-colesterolului	91
3.4.4. Determinarea LDL-colesterolului	92
3.5. Investigații cu caracter somatometric	93
3.6. Fracțiuni lipidice și lipoproteinice la eșantioanele luate în studiu	95
3.6.1. Investigarea principalelor fracțiuni lipidice	95
3.6.1.1. Investigații asupra triacilgliceridelor	96
3.6.1.2. Investigații asupra colesterolului	99
3.6.1.3. Modalități de exprimare și conversie a datelor	
analitice privind fracțiunile lipidice	103
3.6.1.4. Evaluarea grafică a datelor comparative privind	
fracțiunile lipidice	104
3.6.2. Investigarea principalelor fracțiuni lipoproteinice	107
3.6.2.1. Investigații asupra HDL-colesterolului	107
3.6.2.2. Investigații asupra LDL-colesterolului	110
3.6.2.3. Modalități de exprimare și conversie a datelor	
analitice privind fracțiunile lipoproteice	113
3.6.2.4. Evaluarea grafică a datelor comparative privind	
fracțiunile lipoproteinice	114
3.7. Specificul biochimic al homeostaziei și heterostaziei în cazul	
fracțiunilor lipidice și lipoproteinice	119
3.8. Bazele biochimice ale estimării stărilor de hiperlipidemie și	
hiperlipoproteinemie	121
3.8.1. Caracteristicile homeostaziei biochimice în stările de	
hiperlipidemie și hiperlipoproteinemie	121
3.8.2. Clasificarea în accepția Fredrickson	122
3.8.3. Clasificarea în accepția Billimoria	126
3.8.4. Leziunea biochimică în cazul dislipidemiilor	128
3.8.4.1. Leziunea biochimică – generalități	128
3.8.4.2. De la leziunea biochimică la patologia de aparat	129

3.8.4.3. Dislipidemia și dislipoproteinemia în apariția bolilor cardiovasculare	130
3.9. Investigarea conexă a calcemiei și magneziemiei alături de lipidemie și lipoproteinemie	131
4. Evaluarea și predicția în relația dintre dishomeostazia biochimică și somatometrie	139
4.1. Considerații generale	139
4.2. Posibilități de corelare a homeostaziei biochimice cu indexul de masă corporală	141
4.2.1. Preliminarii în somatometrie	141
4.2.2. Evaluarea datelor somatometrice	142
4.2.2.1. Utilizarea diagramei clinice de creștere	142
4.2.2.2. Rezultatele investigațiilor somatometrice	143
4.3. Determinarea indexului de masă corporală	146
4.3.1. Procedeele de calcul	146
4.3.2. Evaluarea subiecților din eșantioane în relația BMI - vârstă	149
4.4. Sindromul metabolic și dishomeostazia biochimică	155
4.4.1. Evaluarea grafică a datelor comparative privind BMI-fracțiuni lipidice la eșantioanele studiate.....	157
4.4.2. Evaluarea grafică a datelor comparative privind BMI-fracțiuni lipoproteice la eșantioanele studiate	158
Concluzii	161
Referințe bibliografice	166

PREFAȚĂ

Teza de doctorat “Investigații asupra unor fracțiuni lipidice și lipoproteinice serice în perioada de adolescență” se adresează unui domeniu de interes major pentru biochimia metabolismului lipidic și patobiochimia lipidelor și lipoproteidelor. Domeniul are implicare în științele vieții și privește: biochimia, cronobiochimia, biologia vârstelor, patologia cardiovasculară, nutriția, farmacologia etc. Rămâne însă de primă importanță caracterul predictiv oferit de astfel de studii privind evoluția statusului homeostaziei biochimice și riscul patologic. Pentru însușirea problematicii domeniului am urmat pregătirea conform Planului Individual al Activității de Pregătire (PIAP) pentru doctorat, elaborat în cadrul Universității Politehnica din Timișoara și am cooperat cu colective de lucru din cadrul Facultății de Chimie Industrială și Ingineria Mediului, a Facultății de Tehnologia Produselor Alimentare și a Institutului de Sănătate Publică Timișoara.

Inițial teza a fost concepută pentru perioada de senescență. Au fost inițiate lucrările de catagrafiere a persoanelor dintr-un „Cămin-Spital de Bătrâni” și s-a preconizat investigarea metabolismelor materiale – predominant a metabolismelor hidroelectrolitic și lipidic. Au existat dificultăți privind prelevarea probelor și transportul acestora. În condițiile existente s-a procedat la o secundă variantă de abordare a temei, urmându-se efectuarea de cercetări asupra unor subiecți la vârsta adolescenței (10-18 ani). Aceasta a fost posibilă prin asocierea Disciplinei de Biochimie-Biologie Moleculară de la Facultatea de Tehnologia Produselor Alimentare Timișoara la o temă de cercetare în cadrul Institutului de Sănătate Publică Timișoara care, în parte, urmărea și aspecte legate de homeostazia biochimică și cronobiochimie (alături de alte probleme de interes biomedical: hematologie, explorări funcționale etc.). Lucrările de cercetare au vizat adolescenți – elevi din ciclurile gimnazial și liceal.

Pentru asigurarea condițiilor de lucru s-a cooperat cu instituțiile dintr-o localitate rurală din cadrul Județului Timiș. Pentru aceasta, cu sprijinul conducerii Primăriei (primar Conf.univ. Dr. Viorel Ștefan) a fost posibil transportul persoanelor cu mijloacele de transport ale acesteia, iar cu sprijinul directorului Liceului din localitate – Prof. Drd. Petrișor Treta s-a efectuat catagrafierea elevilor (ulterior constituindu-se eșantioanele pentru cercetare). Pentru aceasta exprim sincere mulțumiri personalităților amintite. Aceste etape au fost realizate la

solicitarea și cu participarea, în anumite momente, a tatălui meu Dr. Ștefan Polverejan – medic veterinar care a funcționat peste trei decenii în localitatea respectivă.

În elaborarea diverselor lucrări am cooperat cu colegii doctoranzi, cu cadre didactice și cercetători științifici. În aceste sens menționez pe d-na Șef lucr. Dr. Mirela Ahmadi-Vincu, Asist.univ. Drd. Ariana-Bianca Velciov de la Facultatea de Tehnologia Produselor Alimentare, cu d-na Dr. șt. med. Gabriela Gârban de la Institutul de Sănătate Publică Timișoara și dl. Ing. Drd. George-Daniel Ghibu de la Universitatea Politehnica din Timișoara, cărora le adresez mulțumiri. De asemenea, mulțumesc d-lui Prof. Dr. Ing. Ioan Vintilă – specialitatea Genetică, pentru unele sugestii referitoare la tema abordată.

Unele investigații analitice (bazate pe metode care au folosit kituri) s-au efectuat la Institutul de Sănătate Publică Timișoara. O parte din datele analitice privind lipidele și lipoproteinele și unele date antropometrice au folosit ca bază pentru prezenta teză. Evaluarea statistică și calculele privind implicăția dishomeostaziei în patologie au fost efectuate în colaborare cu facultățile amintite. O importantă etapă a cercetărilor a fost aceea legată de introducerea datelor într-un sistem de evaluare globală - preluat din literatura de specialitate - care are recunoaștere internațională, prin acreditarea de către WHO.

La finalizarea tezei exprim mulțumiri d-lui Prof. Dr. Zeno Gârban pentru cunoștințele împărtășite și sprijinul dat, în calitate de conducător științific de doctorat în domeniul chimie-științe exacte (specializarea biochimie), la elaborarea lucrărilor în domeniul cronobiochimiei cu relevarea rolului homeostaziei biochimice.

În fine, dar nu în ultimul rând, mulțumesc familiei mele, părinților și soțului Dr. Herman Aumüller pentru sprijinul dat pe parcursul pregătirii și elaborării tezei de doctorat.

Un mesaj de mulțumiri și recunoștință pentru climatul propice desfășurării activității științifice adresez, de asemenea, colegilor de la Institutul pentru Micro- și Sensorsisteme - în care mi-am desfășurat activitatea de cercetare științifică - la Facultatea de Electrotehnică și Tehnică Informațională de la Universitatea „Otto von Guernicke” Magdeburg-Germania.

Mă consider onorată de a fi elaborat această teză de doctorat sub auspiciile Universității Politehnica din Timișoara în cadrul căreia am absolvit și Facultatea de Chimie Industrială și Ingineria Mediului.

INTRODUCERE

Abordarea problemelor complexe ale metabolismului lipidic, pornind de la aspectele de homeostazie biochimică și cronobiochimie, se adresează unui domeniu de interes major în biochimie și biologia moleculară modernă. O astfel de abordare își găsește aplicații în patologia biochimică (patobiochimie) în relație cu bolile cardiovasculare – un impresionant flagel al lumii contemporane.

Problemele de biochimie în relație cu vârsta interesează toate metabolismele materiale (glucidic, lipidic, proteic și hidro-electrolitic), pentru considerentul că vin în întâmpinarea unei probleme existențiale, aceea legată de evoluția biologică a organismului în perioada juvenilă și involuția acestuia cu înaintarea în timp și, îndeosebi, în perioada de senescență.

Lucrarea este structurată în două secțiuni distincte. Prima secțiune include în două capitole, date generale cu specific monografic referitoare la lipide privind: biochimia statică – structură, compoziție, proprietăți, răspândire naturală etc.; biochimia dinamică – aspecte privind catabolismul și anabolismul, particularitățile cronobiochimiei în relație cu homeostazia biochimică, etc. Secunda secțiune, constituită, de asemenea, din două capitole, redă contribuțiile la investigațiile statusului homeostaziei biochimice a lipidelor și lipoproteinelor serice și, legat de aceasta, aspectele particulare ale predicției în relația dintre homeostazia biochimică și antropometrie.

Problemele referitoare la cronobiologie care se adresează organismului uman au a interesat deopotrivă extinderea cercetărilor în științele exacte – în care s-au investigat aspecte de biochimie, biofizică, fiziologie, fiziopatologie, biomatematică (spre exemplu, mecanica sistemului osteoarticular, teoria probabilităților); în științele vieții – în care s-au studiat biologia generală (cu subdomeniul – biologia vârstelor); biologia medicală și patologia bolilor degenerative, geriatria etc.; în științele umaniste – regăsindu-se în filozofie, literatura universală, istorie; în artă - pictură, sculptură etc. Dintre toate acestea, abordarea din punctul de vedere al chimiei – cu mijloacele specifice biochimiei – reprezintă, cu certitudine, calea de maximă importanță pentru abordarea cronobiologiei, mai exact a cronobiochimiei, în scopul prevenirii bolilor și ulterior pentru intervenția prin mijloacele specifice farmacologiei.

În cadrul prezentei teze de doctorat s-a urmărit cu acuratețe evidențierea aspectelor dishomeostaziei biochimice a lipidelor și lipoproteinelor întâlnite la subiecții cu vârste de 10-18 ani, considerată conform normelor instituite de WHO “perioada de adolescență”. Subiecții au fost reprezentați de elevi aflați în ciclul gimnazial și liceal. Aceștia au fost grupați în două eșantioane: eșantionul n_1 – care a inclus 174 băieți și eșantionul n_2 – care a inclus 249 fete. În cadrul fiecărui eșantion s-a făcut catagrafierea subiecților pe grupe de vârstă, aceștia incluzându-se în grupe distincte de la 10 – 18 ani. Deci în total nouă grupe de vârstă în cadrul fiecărui eșantion.

Cu referire la prevederile WHO referitoare la gruparea pe vârste se menționează că în cadrul perioadei de adolescență 10 – 18, ani se admite existența a două subperioade 10 -14 ani, respectiv 15 – 18 ani. Subdivizarea are în vedere un criteriu endocrinologic (în principiu bazat tot pe homeostazia biochimică a steroizilor gonadali – hormoni androgeni și estrogeni) și anume pubertatea. S-a făcut această remarcă pentru considerentul că unele din datele referitoare la lipidele și lipoproteinele serice prezintă, doar aparent, aspecte non-concludente în raport cu vârsta. Există și o abordare conexasă a problemelor calcemiei și magneziemiei în perioada de vârstă 14-18 ani. Acestea se explică însă prin modificările endocrine specifice perioadei de pubertate și sunt evidențiate în teză situațiile în care au fost decelate.

Din datele analitice referitoare la lipide și lipoproteine pentru care s-a apelat la standardele internaționale, acreditate de WHO, preluate atât în UE, cât și în România - s-a procedat la evaluarea și interpretarea rezultatelor. În acest scop s-a urmărit într-un cadru mai larg legătura între homeostazia biochimică și unele corelații cu datele antropometrice (somatometria staturală și ponderală).

Aprofundarea problemelor referitoare la homeostazia biochimică în relație cu metaboliți lipidici (triacilgliceride, colesterol) și metaboliți lipoproteinici (HDL-colesterol și LDL-colesterol) au făcut posibilă o distinctă estimare, în cadrul eșantioanelor și a grupelor de vârstă, a riscurilor dishomeostaziei biochimice. Corelarea datelor biochimice cu datele antropometrice – metodă considerată de acuratețe și aflată în atenția unor organisme internaționale a oferit noi posibilități de validare a lucrărilor efectuate. Aceștia își confirmă utilitatea aplicativă prin caracterul predictiv care merge până la nivel individual. În acest cadru, și cu aceste obiective de interes teoretic și aplicativ, au fost întreprinse cercetările expuse în continuare.

1. PROBLEME FUNDAMENTALE ALE BIOCHIMIEI STATICE ȘI DINAMICE SPECIFICE LIPIDELOR

1.1. CONSIDERAȚII GENERALE

Lipidele constituie o clasă de substanțe organice cu largă răspândire în organismele vii, fiind componente importante ale celulelor și țesuturilor. Reprezentantii acestei clase relevă o heterogenitate a structurii și, dependent de aceasta, o varietate a proprietăților fizico-chimice.

Lipidele, ca și bioconstituenți ai materiei vii de origine vegetală și animală, au fost cunoscute încă din antichitate. Primele investigații mai sistematice, întreprinse de Scheele în 1779, au condus la izolarea glicerolului – unul din componenții lipidici prezent în uleiul de măsline. Studii de mai mare amploare asupra constituției acestora s-a făcut pentru prima dată în perioada 1811 – 1823 de către Chevreul, pentru grăsimile animale. S-a conchis astfel că lipidele sunt formate din glicerol și acizi organici (denumiți acizi grași).

Compușii cu structură lipidică mai complexă au fost izolați în a doua jumătate a secolului XIX. Astfel, în 1885 Goblely a izolat din gălbenușul de ou primul compus lipidic cu structură complexă numit lecitina. În perioada 1884 – 1901, Thudichum a efectuat cercetări mai sistematice asupra lipidelor cu fosfor (fosfatidelor), determinându-se raportul N/P în diverși compuși. Cercetările ulterioare au condus la circumscrierea mai riguroasă a problematicii legată de constituția, compoziția, rolul morfofiziologic și topobiochimic al compușilor din această clasă.

În celule, lipidele se află în compoziția membranelor celulare (intervenind în reglarea permeabilității și transportului transmembranar), a organitelor și citoplasmei. Acumularea lipidelor în regnul vegetal și animal vizează preferențial anumite țesuturi. Astfel, la plante se acumulează în semințe și uneori în coaja fructelor, iar la animale în țesutul conjunctiv, subcutanat și în diverse organe interne.

Lipidele din unele produse vegetale și animale au un rol important pentru nutriția omului. Lipidele din organismul uman sunt predilect substanțe de rezervă cu valoare calorică ridicată. În industrie, lipidele (grăsimile) au utilizare diversă: produse alimentare naturale și/sau procesate, medicamente, produse cosmetice (săpunuri, parfumuri), uleiuri industriale, vopsele ș.a.

1.2. LIPIDELE ȘI LIPOPROTEINELE - BIOCONSTITUENȚI AI ORGANISMULUI

1.2.1. PRIVIRE SINOPTICĂ

În compoziția diverselor sisteme biologice s-au decelat elemente chimice numite, la modul general, "*elemente biogene*" sau "*bioelemente*". În organismele vii bioelementele se află, în marea majoritate a cazurilor, asociate sub formă de combinații chimice, constituind "*biomolecule*". Descrierea biomoleculelor s-a făcut în prestigioase tratate de specialitate (Louisot, 1969; Rapoport, 1977; Tanner, 1978; Rawn, 1991 etc.).

Constituenții materiei vii, numiți cu un termen generic și "bioconstituenți", sunt localizați în formațiunile ultrastructurale, specifice sistemelor biologice (virusuri, procariote, eucariote), și se află într-o continuă transformare. Între organismele vii și mediu se realizează interacțiuni complexe, constând în schimburi continue de substanță, energie și informație.

În organismul omului lipidele se află sub formă de metaboliți lipidici de proveniență exogenă – alimentară sau endogenă – rezultați în cadrul unor procese caracteristice metabolismului intermediar. În acest mod se realizează «lipogeneza» care poate avea ca resurse primare compuși lipidici, compuși glucidici și, în măsură mai redusă, compuși protidici.

Pentru a avea o privire de ansamblu asupra bioconstituenților din diverse clase de compuși se prezintă date generale asupra: a) bioelementelor; b) biomoleculelor.

A. Bioelemente

În cursul procesului evolutiv organismul viu selecționează din mediul înconjurător diferite elemente indispensabile morfogenezei ultrastructurilor și funcțiilor proprii. Având în vedere criteriul cantitativ se pot distinge: macro-, oligo- și microelemente.

1) *Macrobioelemente* sau *elemente macrobiogene* – reprezintă în total cca. 99,70 % din constituenții materiei vii. Între acestea se includ bioelementele denumite cuaternare: oxigen, carbon, hidrogen și azot (96,20 %), la care se mai adaugă calciul și fosforul (2,50 %) constituind împreună "*grupul biomacroelementelor*".

O comparație cantitativă între compoziția elementară a plantelor superioare, animalelor și omului, este oferită de grupul cuaternar de bioelemente (C, O, H, N) prezente în organismele acestora (tabel 1-1).

Tabel 1-1. Concentrația bioelementelor cuaternare

Organisme	Concentrația - valori medii (%)			
	C	O	H	N
Plante	54,00	38,00	7,00	0,03
Animale	21,00	62,00	10,00	3,00
Om	21,05	62,43	9,68	3,10

2) *Oligobioelemente* sau *elemente oligobiogene* – se află în proporție redusă, reprezentând 0,05 – 0,75 %. În grupa acestora se includ: potasiu, sodiu, magneziu, sulf, clor.

Oligobioelementele sunt prezente în structura unor compuși bioorganici și/sau bioanorganici sub formă nedisociată sau disociată. Oligobioelementele în formele disociate se pot prezenta sub formă de cationi: K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , sau sub formă de anioni: SO_4^{2-} (dar mai ales SO_3H^-), Cl^- etc. Deci, se poate conchide că în cadrul acestei grupe se includ bioelemente metalice și nemetalice.

3) *Microbioelemente* sau *elemente microbiogene* – sunt prezente în organism în cantități extrem de reduse, uneori doar în urme. Acestea se grupează în:

- *microbioelemente invariabile (indispensabile)* – prezente în toate organismele vii. Între acestea se includ: Fe, Zn, Cu, Co, Mn, Mo, F, I etc;

- *microbioelemente variabile* – prezente doar în anumite organisme. Astfel de elemente sunt: Ni, Se, Si, B etc.

O privire generală asupra bioelementelor relevă faptul că în organisme predomină elementele chimice cu mase atomice mici. Acestea se află în principal în primele trei perioade ale sistemului periodic: grupul cuaternar de elemente (H, C, N, O) se află în perioadele I și II, iar bioelementele importante (e.g.: Na, Mg, P, S, Cl) se află în perioada III. Restul bioelementelor, 27 în total, se află în alte perioade. Dacă se urmărește o prezentare mai riguroasă a distribuției bioelementelor, se poate arăta că în organismul uman primele patru elemente, așa numitele elemente cuaternare (H, C, N, O) reprezintă 98,90 %, secunde șapte

(Ca, P, Cl, K, S, Na, Mg) reprezintă diferența de 1,10 %. Astfel, în ansamblu, doar 11 bioelemente sunt mai reprezentative pentru organismul uman.

B. Biomolecule

Bioelementele prezente în organism se află asociate sub formă de diverse combinații chimice. Acestea sunt caracterizate printr-o compoziție și o structură bine definite, ceea ce asigură “biocompatibilitatea” chimică și participarea la transformările fizico-chimice din organism (Goodwin și Mercer, 1983; Karlson, 1984; Weil, 1989; Matthews et al., 1997).

Combinațiile chimice au fost denumite cu un termen generic “*biomolecule*”. Acestea se pot grupa în: biomolecule anorganice și biomolecule organice. În organism acestea se află, așa cum s-a arătat, sub formă de bioconstituenți. Prezentarea generală, sinoptică a bioconstituenților (după Garban, 2005b) se face în fig.1-1.

Biomoleculele anorganice și organice se află în toate celulele și țesuturile din organism, precum și în compoziția nutrienților (principiilor nutritive) de origine vegetală și animală.

1) *Biomolecule anorganice*. În această categorie se includ: apa și compușii biominerali.

a) *Apa*. Reprezintă componentul chimic prezent în cea mai ridicată proporție în organismul viu. Cantumul acesteia este cuprins între 40-94 %, fiind diferit în funcție de regn, specie, sex, vârstă etc.

Astfel, organismul viu poate fi considerat ca un sistem heterogen dispers, al cărui mediu de dispersie este apa. Originea apei poate fi exogenă (provenită din alimente) sau endogenă (provenită din reacții biochimice).

b) *Compuși biominerali*. Compușii biominerali prezenți în organismele vii (menționați adesea sub denumirea de “săruri minerale” din organisme), se află în proporție de 3-5 %. Acești compuși sunt reprezentați predilect de substanțe de tipul structural anion-cation, care în urma disociației electrolitice pot forma anioni și cationi.

În principal, în organism se află anionii: clor, fosfor, carbonat, sulfat, azotat, etc. și cationii: sodiu, potasiu, calciu, magneziu etc. Ionii proveniți din disocierea compușilor biominerali pot fi absorbiți pe suprafața coloizilor celulari intervenind în echilibrul coloidosmotic și participând la desfășurarea interacțiilor în unele căi biochimice specifice metabolismului hidro-electrolitic.

2) *Biomolecule organice*. În accepția clasică – uzitată curent în tratatele de biochimie – în această grupă de biomolecule se includ principalele clase de compuși: glucide, lipide, protide.

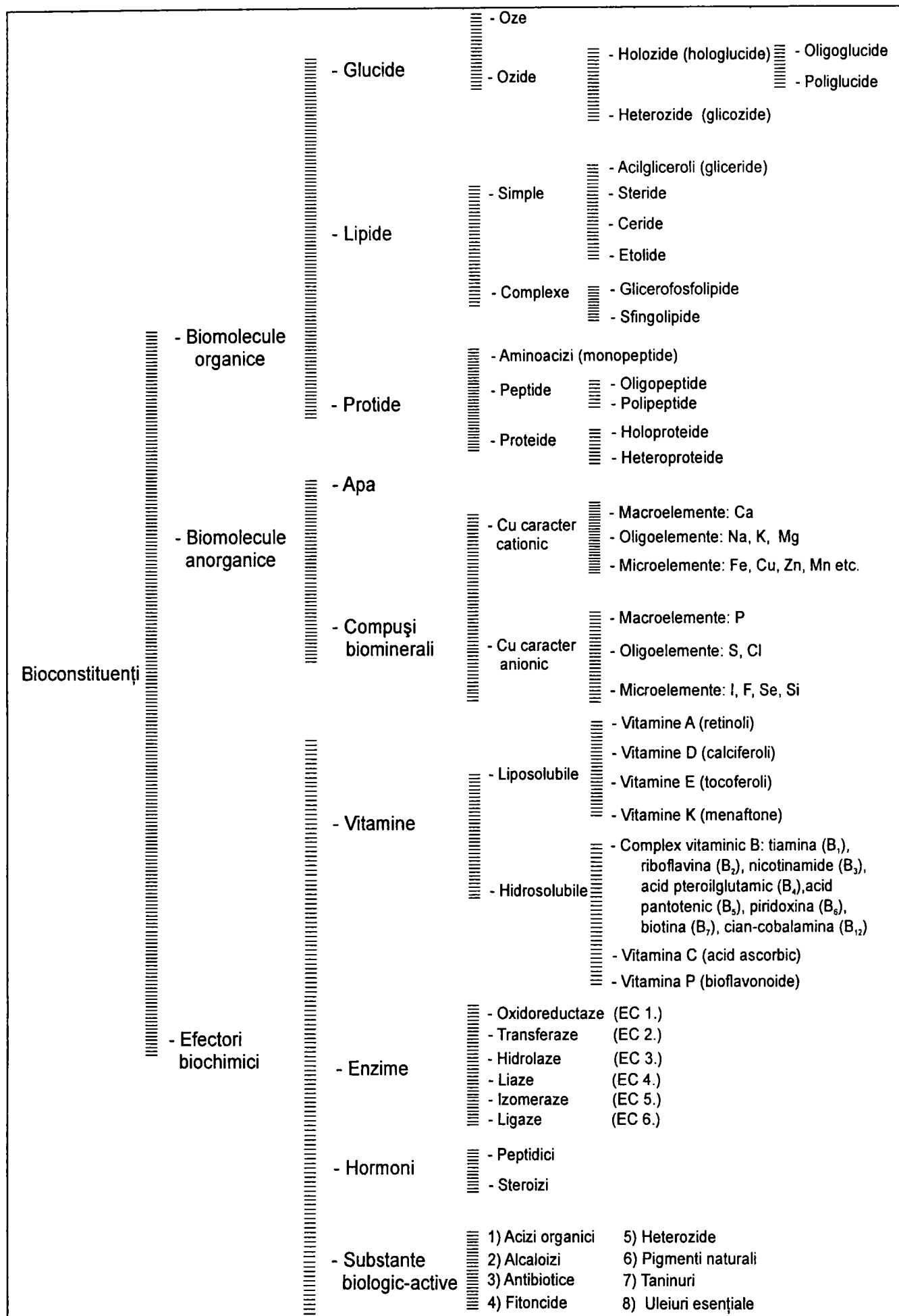


Fig.1-1. Bioconstituenții identificați în organismele vii – prezentare generală

O prezentare generală a distribuției biomoleculilor în materia vie (plante, animale, om) se face în tabelul 1-2. Se remarcă cuantumul ridicat al apei în toate cazurile. Dintre compușii organici se observă predominanța glucidelor în regnul vegetal și a protidelor în regnul animal.

Tabel 1-2. Distribuția naturală a biomoleculilor

Clasa de compuși	Compoziția (%)		
	Plante	Animale	Om
Biomolecule anorganice	77,5	64,3	64,0
Apa	75,0	60,0	60,0
Compuși minerali	2,5	4,3	4,0
Biomolecule organice	22,5	35,7	36,0
Glucide	18,0	6,2	1,0
Lipide	0,5	11,7	15,0
Protide	4,0	17,8	20,0

a) *Glucide*. Glucidele sunt compuși chimici naturali prezenți în regnurile vegetal și animal. În compoziția acestora se află – în majoritatea cazurilor - așa numitele “bioelemente ternare”: carbonul, hidrogenul și oxigenul care definesc structural glucidele simple (α) de tipul ozelor (monozaharidelor), e.g.: glucoză, fructoză, galactoză, riboză etc. În această clasă de compuși se includ și glucidele complexe (β) numite ozide, dintre care în cantități mai mari în natură se află poliholozidele (poliglucidele), spre exemplu glicani (amidon, glicogen, celuloza), fructani (inulina) ș.a. Din clasa ozidelor fac parte și heterozidele (glicozidele) în compoziția cărora s-au mai decelat azotul, fosforul și sulful.

Compușii din clasa glucidelor sunt cunoscuți și sub denumirea de “zaharide” sau “hidrați de carbon” (cu variantele de denumiri uzuale: “carbohidrați” sau “hidrocarbonate”).

b) *Lipide*. Lipidele sunt compuși cu structură heterogenă și proprietăți chimice variate, având două caracteristici esențiale: hidrofobicitatea și insolubilitatea în apă.

Sub raportul compoziției chimice lipidele se prezintă ca esteri în compoziția cărora se află resturi de alcooli și acizi organici. La formarea lipidelor participă alcooli monohidroxilați (aciclici sau ciclici), un alcool polihidroxilat (glicerolul) sau alcooli aminați și steroli. Acizii organici din constituția lipidelor – numiți și “acizi grași” sunt compuși carbonilici cu structură saturată, nesaturată, ciclică. Unii acizi grași au în catenă grupări funcționale hidroxilate, cetonice etc. O seamă de compuși conțin și acid fosforic.

În natură, din punct de vedere constituțional, s-au decelat: α) lipide simple, cum ar fi: acilgliceroli, ceride, steride, etolide; β) lipide complexe, cum ar fi: glicerofosfolipide, sfingolipide.

Lipidele simple - sunt compuși ternari (conțin C, H, O), cu structură de esteri organici care în funcție de natura resturilor de alcooli sau de acizi organici sunt denumiți gliceride (acilgliceroli); ceride (ceruri); steride; etolide.

Lipidele complexe - sunt formate din bioelemente ternare alături de care pot să apară fosforul, azotul, sulful.

Lipidele se află în diversele produse alimentare vegetale și animale și, evident, în organismul uman. Lipidele din materia vie au rol în procesele de morfogeneză și energogeneză. Prezintă importanță biologică, nutrițională, biomedicală și industrială.

În organismul omului lipidele se află sub formă de metaboliți lipidici de proveniență exogenă – alimentară și de proveniență endogenă – rezultați în cadrul unor procese caracteristice metabolismului intermediar.

c) *Protide*. Protidele sau proteinele reprezintă o clasă mare de bioconstituenți care au distribuție ubicvitară în lumea vie.

Sub raportul compoziției chimice protidele (proteinele) se constituie în trei grupe de compuși în funcție de complexitatea structurală: α) Aminoacizi (monoptide) - sunt substanțe cuaternare în compoziția cărora se află carbon, oxigen, hidrogen și azot; β) Peptide - au ca unități structurale, de bază, aminoacizii care se eliberează prin hidroliză chimică (acidă, bazică) sau biochimică (enzimatică); γ) Proteide - au în compoziție, alături de C, O, H, N și alte elemente: fosfor, sulf, oligo- și microelemente metalice (Mg, Fe, Zn, Cu, Mn) etc. Sub aspect structural se disting: γ_1) holoproteide – constituite din catene macromoleculare de aminoacizi; γ_2) heteroproteide – în constituția cărora se disting o componentă proteică de tip polipeptidic și o componentă prostetică reprezentată de: glucide (glicoproteine); lipide (lipoproteine); acizi nucleici (nucleoproteine); derivați cromatici (cromoproteide); acid fosforic (fosfoproteide); ioni metalici (metaloproteide).

1.2.2. STRUCTURA CHIMICĂ A LIPIDELOR ȘI LIPOPROTEINELOR

1.2.2.1. Precursori structurali

În compoziția lipidelor se află acizi grași – reprezentați prin acizi organici superiori (saturați, nesaturați, hidroxilați etc.), compuși hidroxilați (alcooli, aminoalcooli, steroli etc.) și, în unele cazuri, resturi de acid fosforic. Aceste substanțe sunt precursori ai lipidelor și evident ai lipoproteinelor. O prezentare generală a acestora se face în continuare.

1.2.2.1.1. Acizii grași

Sub denumirea de “acizi grași” se includ acizii organici care esterifică cu diverșii alcooli: glicerolul, sterolii, monoalcooli cu catenă lineară, aminoalcooli. În urma esterificării se formează lipide simple și lipide complexe.

Constituția chimică a lipidelor diferă foarte mult. În lipidele din regnul vegetal și animal se află îndeosebi acizi grași monocarboxilici cu număr par de atomi de carbon (în general 4-32 atomi de C).

Sub aspect structural se află acizii grași cu catenă lineară, ramificată, ciclică, cu legături duble (mono- sau polienoici). La aceștia pot fi prezente grupări funcționale diverse: hidroxi-acizi, ceto-acizi, epoxi-acizi etc. O prezentare generală a principalilor acizi grași se face în tabelul 1-3

Tabel 1-3. Acizi grași prezenți în lipide – principalii reprezentanți

Tipul	Nr. atomi de C	Simbol	Denumirea acidului		Formula chimică
			Uzuală	Chimică	
cu catenă lineară	4	C ₄	Butiric	n-butanoic	H ₃ C-(CH ₂) ₂ -COOH
	6	C ₆	Capronic	n-hexanoic	H ₃ C-(CH ₂) ₄ -COOH
	8	C ₈	Caprilic	n-octanoic	H ₃ C-(CH ₂) ₆ -COOH
	10	C ₁₀	Caprinic	n-decanoic	H ₃ C-(CH ₂) ₈ -COOH
	12	C ₁₂	Lauric	n-dodecanoic	H ₃ C-(CH ₂) ₁₀ -COOH
	14	C ₁₄	Miristic	n-tetradecanoic	H ₃ C-(CH ₂) ₁₂ -COOH
	16	C ₁₆	Palmitic	n-hexadecanoic	H ₃ C-(CH ₂) ₁₄ -COOH
	18	C ₁₈	Stearic	n-octadecanoic	H ₃ C-(CH ₂) ₁₆ -COOH
	20	C ₂₀	Arahic(arahidic)	n-eicosanoic	H ₃ C-(CH ₂) ₁₈ -COOH
	22	C ₂₂	Behenic	n-docosanoic	H ₃ C-(CH ₂) ₂₀ -COOH
	24	C ₂₄	Lignoceric	n-tetracosanoic	H ₃ C-(CH ₂) ₂₂ -COOH
	26	C ₂₆	Cerotic	n-hexacosanoic	H ₃ C-(CH ₂) ₂₄ -COOH
	28	C ₂₈	Montanoic	n-octacosanoic	H ₃ C-(CH ₂) ₂₆ -COOH
	30	C ₃₀	Melistic	n-triacontanoic	H ₃ C-(CH ₂) ₂₈ -COOH
32	C ₃₂	Laceroic	n-dotriacontanoic	H ₃ C-(CH ₂) ₃₀ -COOH	
cu catenă ramificată	4	-	Izobutiric	2-metil propanoic	H ₃ C-CH(CH ₃)-COOH
	5	-	Izovalerianic	3-metil butanoic	H ₃ C-CH(CH ₃)-CH ₂ -COOH
	14	-	Izomiristic	12-metil tridecanoic	H ₃ C-CH(CH ₃)-(CH ₂) ₁₀ -COOH
	19	-	Tuberculo-stearic	10-metil octadecanoic (10-metil stearic)	H ₃ C-(CH ₂) ₇ -CH(CH ₃)-(CH ₂) ₈ -HOOC
	22	-	Fitanic	5,9,13,17-tetra-metil octadecanoic	H ₃ C-[CH(CH ₃)-(CH ₂) ₃] ₃ -CH(CH ₃) COOH-(CH ₂) ₃
	26	-	Ftioic	3,13,19-trimetil tricosanic	H ₃ C-(CH ₂) ₃ -CH(CH ₃)-(CH ₂) ₅ -CH(CH ₃) COOH-CH ₂ -CH(CH ₃)-(CH ₂) ₉
32	-	Micoceramic	2,4,6-trimetil nonacosanic	H ₃ C-(CH ₂) ₂₂ -CH(CH ₃)-CH ₂ -CH(CH ₃) HOOC-(CH ₃)CH-CH ₂	

Alături de acizii grași menționați, în structura lipidelor se pot afla și acizii grași cu structură eicosanoidică. Acizii eicosapolienoici (tri-, tetra- și pentaenoici) sunt redași în fig.1-2.

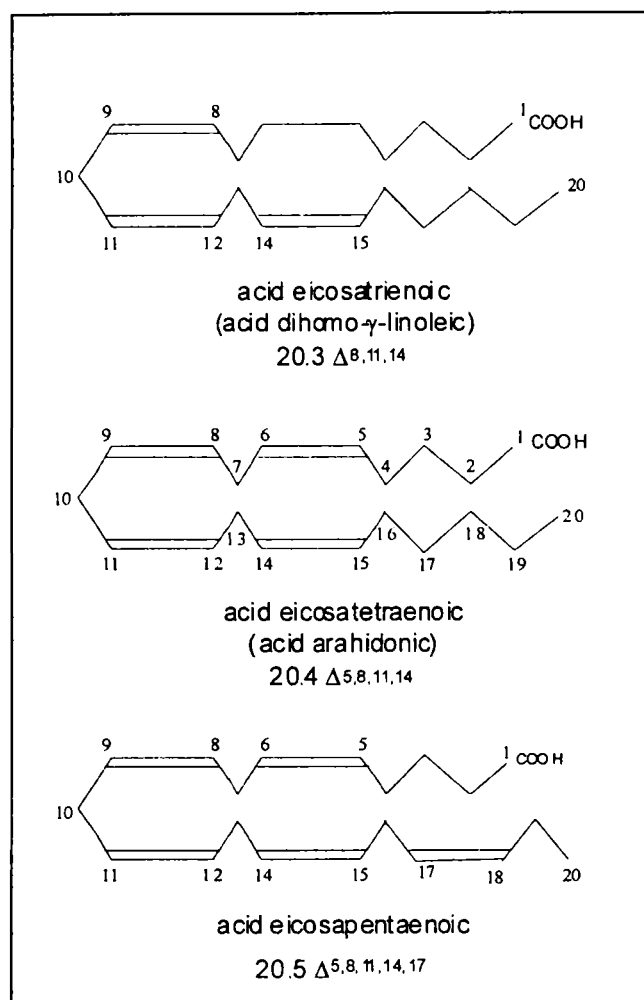


Fig.1-2. Acizii eicosapolienoici – formule structurale

Acești compuși poartă denumirea generică de “eicosanoizi” și au o catenă formată din 20 atomi de C (gr.eikos-douăzeci).

În organism biosinteza eicosanoizilor se face pornind de la acidul arahidonic (20.4 $\Delta^{5,8,11,14}$). Se formează derivați ai acestora: *prostaglandinele* – cu rol de hormoni tisulari locali, modulatori ai acțiunii hormonilor etc.și leucotrienele (izolate inițial din leucocite) – cu rol în medierea reacțiilor alergice și inflamatorii.

1.2.2.1.2. Compușii hidroxilici

Studiul compoziției și structurii lipidelor din șesuturi și lichide biologice au relevat, alături de prezența acizilor superiori (acizii grași), a acidului fosforic cu distribuție limitată și prezența compușilor hidroxilați. Această compoziție complexă explică prezența legăturilor esterice din constituția lipidelor și proprietățile fizico-chimice caracteristice acestei clase de

compuși biochimici (Goodwin și Mercer, 1983; Armstrong, 1989). În lipide se află compuși hidroxilici reprezentați de: a) polialcoolii; b) monoalcoolii; c) steroli; d) aminoalcoolii.

a) *Polialcoolii*. În lipide se află doi reprezentanți ai compușilor polioliici: glicerol (glicerina) – care structural este 1,2,3-propan triol, prezent în triacilgliceride (TAG) și derivați fosfatați ai acestora; glicerofosfolipide, inozitol – care este hexan hexită care se află în inozitolfosfolipide. Formulele structurale ale polialcoolilor specifici lipidelor se dau în fig.1-3.

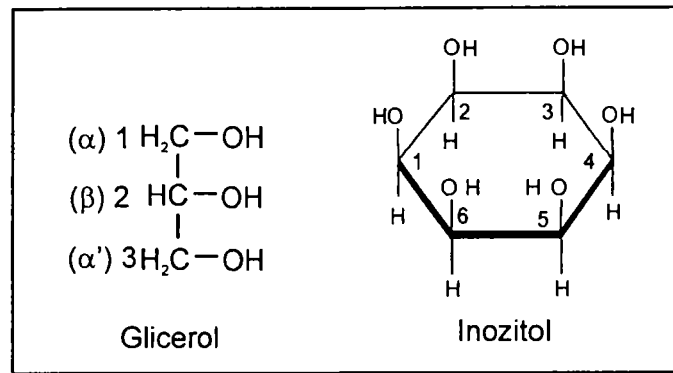


Fig.1-3. Polialcoolii prezenți în compoziția lipidelor

b) *Monoalcoolii*. Sunt alcoolii cu catenă lineară care conțin, în general, mai mult de 10 atomi de C în catenă. Formula generală a compușilor din această grupă este:



Se menționează că pot exista și compuși nesaturați. Monoalcoolii se află predilect în constituția ceridelor. În compoziția lipidelor se pot găsi și grupări hidroxilice ale altor resturi moleculare. Astfel sunt acizii grași hidroxilați, numiți hidroxi-acizi sau acizi-alcoolii. Asemenea resturi lipidice hidroxilate se află în etolide.

c) *Steroli*. Sub aspect structural sterolii sunt alcoolii superiori care derivă structural de la un nucleu hidrocarbonat tetraciclic numit steran sau gonan. Steranul este nucleul de bază din care derivă sterolii (fig. 1-4).

Din punct de vedere structural steranul (gonanul) este o hidrocarbură cu 17 atomi de C (notată uzual C₁₇) din care se pot forma derivații de tipul estran (C₁₈); androstan (C₁₉); pregnan (C₂₁); colan (C₂₄); colestran (C₂₇). Dintre acestea, pentru prezenta teză prezintă interes colestanul. Din colestan se formează derivatul hidroxilat – colestanol, care se află la originea: a) zoosterolilor (sterolii de origine animală): colesterol, coprosterol, laosterol ș.a.; b) fitosterolilor (sterolii din plante): sitosterol, stigmatosterol; c) micosterolilor (sterolii din fungi): ergosterolul. Cunoașterea problemelor privind structura chimică și activitatea

biologică a colesterolului – principalul zoosterol – este importantă în biochimie și patobiochimie.

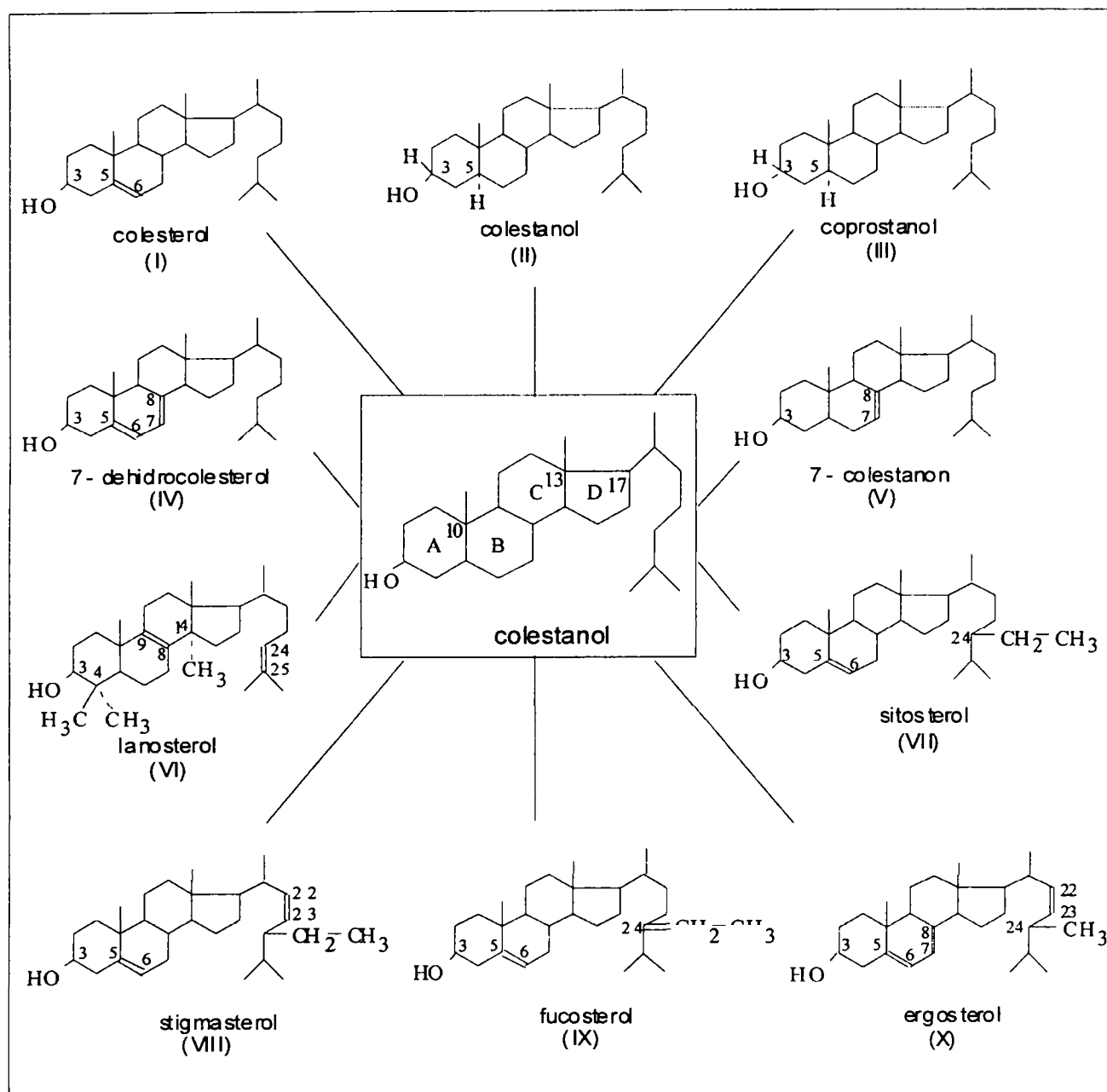


Fig.1-4. Formule structurale ale principalilor steroli

d) *Aminoalcooli*. Compușii hidroxilici din această categorie prezenți în lipide sunt: sfingozina și derivații acesteia (fig.1-5); colamina și derivații metilați și carboxilați ai acesteia (fig.1-6).

Sfingozina și derivații. Principalul reprezentant este sfingozina (1,3-dihidroxi-2-amino- Δ^4 -octadecen) - un amino-alcool izolat din lipidele complexe numite sfingolipide. În prezent se cunosc peste 30 de specii moleculare de amino-alcooli superiori.

Dintre aceștia mai cunoscuți sunt doi derivați ai sfingozinei: 4-dihidrosfingozina (1,3-dihidroxi-2-amino-octadecen) și fitosfingozina (1,3,4-trihidroxi-2-amino-octadecen) – v.fig1-5.

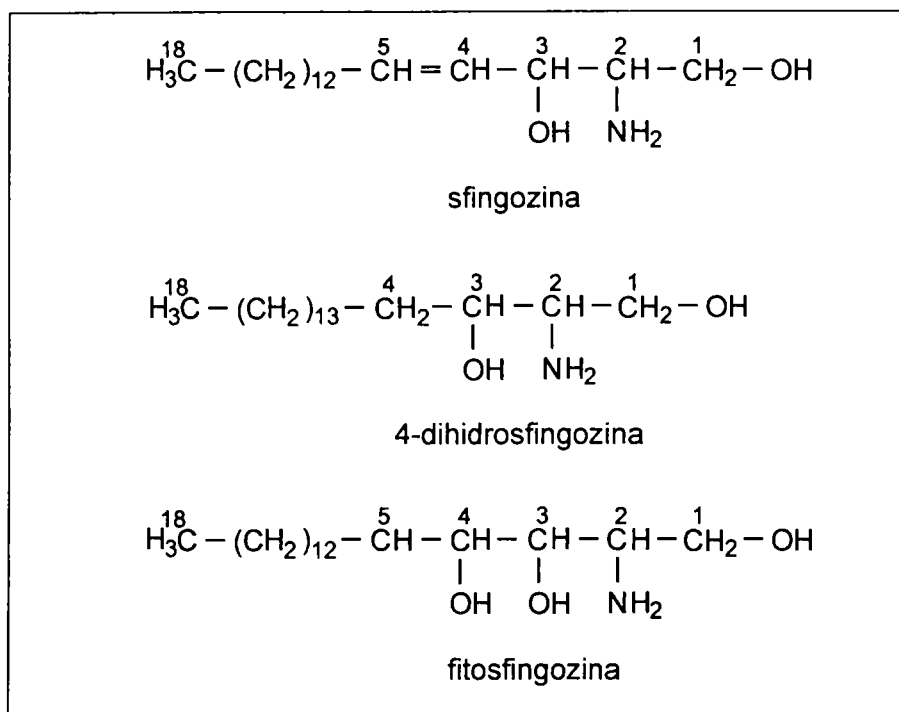


Fig.1-5. Sfinгоzina și principalii derivați ѕfinгоzinici

Lipidele din subclasa ѕfinгоlipidelor se formează prin legarea unui acid gras la gruparea aminică (-NH₂), rezultând, în primă instanță, un compus amidic numit ceramida.

Colamina și derivații. În compoziția glicerofosfolipidelor izolate din țesuturile vii se află obișnuit colamina sau etanolamina (1-amino-2-hidroxi-etan) și derivați ai acesteia (v.fig.1-6).

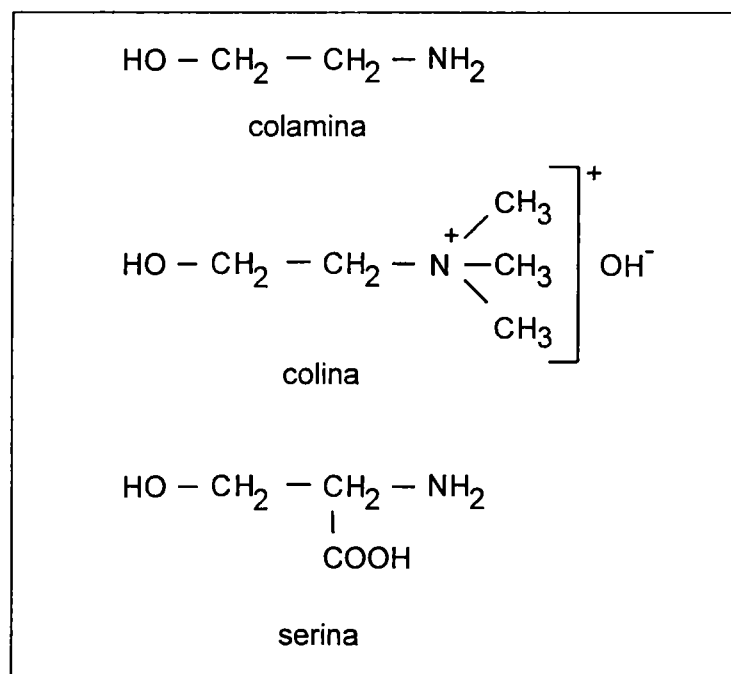


Fig.1-6. Colamina și derivații metilat și carboxilat

Colina se leagă de gruparea fosforică din glicerofosfolipide și formează colaminfosfolipidele numite și cefaline.

Principalii derivați ai colaminei sunt colina și serina. Colina - este un derivat trimetilat cu denumirea trimetil-1-amino-2-hidroxi-etan din care se formează colinfosfolipidele (lecitina). Serina - este un derivat carboxilat al etanolaminei, deci un aminoacid cunoscut sub numele de acid alfa-amino-beta-hidroxi-propionic din care se formează glicerofosfolipidele denumite serinfosfolipide (fosfatidilserina).

1.2.2.2. Structura chimică a lipidelor

Substanțele din clasa lipidelor prezintă compoziție și structură variată, având totuși o constituție chimică caracteristică – structura esterică. La formarea esterilor participă un alcool monohidroxilat (aciclic/ciclic), sau polihidroxilat și acizi organici (saturați sau neasaturați). În compoziția acestora se pot afla de asemenea acidul fosforic și aminoalcooli.

Clasificarea generală a lipidelor (fig. 1-7) include două subclase diferite prin structură și compoziție chimică: lipidele simple și lipidele complexe.

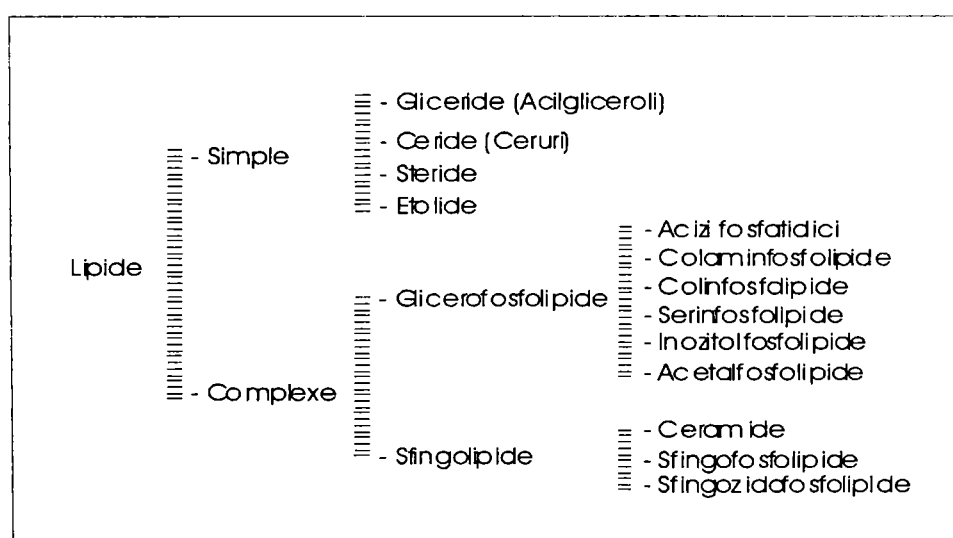


Fig.1-7. Clasificarea generală a lipidelor

1) Lipide simple - cu specific de substanțe ternare, care conțin doar carbon, oxigen, hidrogen. În subclasa lipidelor simple se includ acilgliceridele (denumite adesea și gliceride sau acilgliceroli); steridele, ceridele și etolidele.

2) Lipide complexe - care mai pot conține fosfor, azot și uneori chiar sulf. În subclasa lipidelor complexe se includ glicerofosfolipidele și sfingolipidele. Apoi, în fiecare subclasă se pot include diferite grupe de compuși distincte prin structura chimică și activitatea biologică. În continuare se vor prezenta, sumar, diverse grupe de compuși aparținând subclaselor

menționate mai sus. Evident, se vor discuta predilect, compușii lipidici prezenți ca bioconstituenți ai țesuturilor și lichidelor biologice și a căror homeostazie se corelează cu patologia biochimică a bolilor cardiovasculare (Mincu și Hâncu, 1983; Belcher et al., 1993; Gupta et al., 1994a; Fuster et al., 2001; Garban, Aumüller et al., 2004).

1.2.2.2.1. Lipidele simple

Lipidele simple sunt compuși ternari (conțin C, H, O), cu structura de esteri organici care - în funcție de natura resturilor de alcooli și de acizi organici (acizi grași) - se grupează în:

a) *Acilgliceride (gliceride)* - constituite din glicerol la care se esterifică acizi grași ;

b) *Steride* - formate din alcooli din clasa sterolilor (e.g.: colesterol, sitosterol etc.) esterificați cu acizi grași superiori;

c) *Ceride (ceruri)* - compuși formați prin esterificarea unor alcooli superiori cu masă moleculară mare cu acizi grași superiori;

d) *Etolide* - se formează prin esterificarea ciclică sau lineară a unor acizi grași hidroxilați.

Dintre lipidele simple – având în vedere domeniul abordat de această lucrare – se vor discuta, succint, aspectele structurale privitoare la acilgliceride și steride.

Acilgliceridele

În constituția acilgliceridelor (gliceridelor) se află, așa cum s-a arătat, glicerolul (1,2,3 – propantriolul) și acizi organici superiori (acizi grași). Între restul hidroxilic al glicerolului și restul de acid organic (R-CH₂-COOH) se formează legătura esterică (– CO – O –). Din acidul organic (acidul gras) inițial se mai menține un rest „acil”. De aici derivă și numele de „acilgliceroli” a acestei subclase de compuși lipidici.

Reacția de esterificare poate interesa, una, două sau toate trei grupările hidroxilice ale glicerolului. Astfel rezultă mono- di- sau triacilgliceride (fig.1-8).

Așa cum se poate remarca, în funcție de natura restului de acid gras, se pot distinge acilgliceride simple – care conțin același acid gras și acilgliceride mixte – în care există 2-3 acizi grași diferiți.

Acilgliceridele sunt lipidele cu cea mai largă răspândire naturală, fiind prezente în toate celulele și țesuturile organismelor din regnurile vegetal și animal.

Proprietățile fizice ale acilgliceridelor depind de natura și cantitatea acizilor grași constituenți. Astfel se disting grăsimi lichide (numite uleiuri), predominante în regnul vegetal,

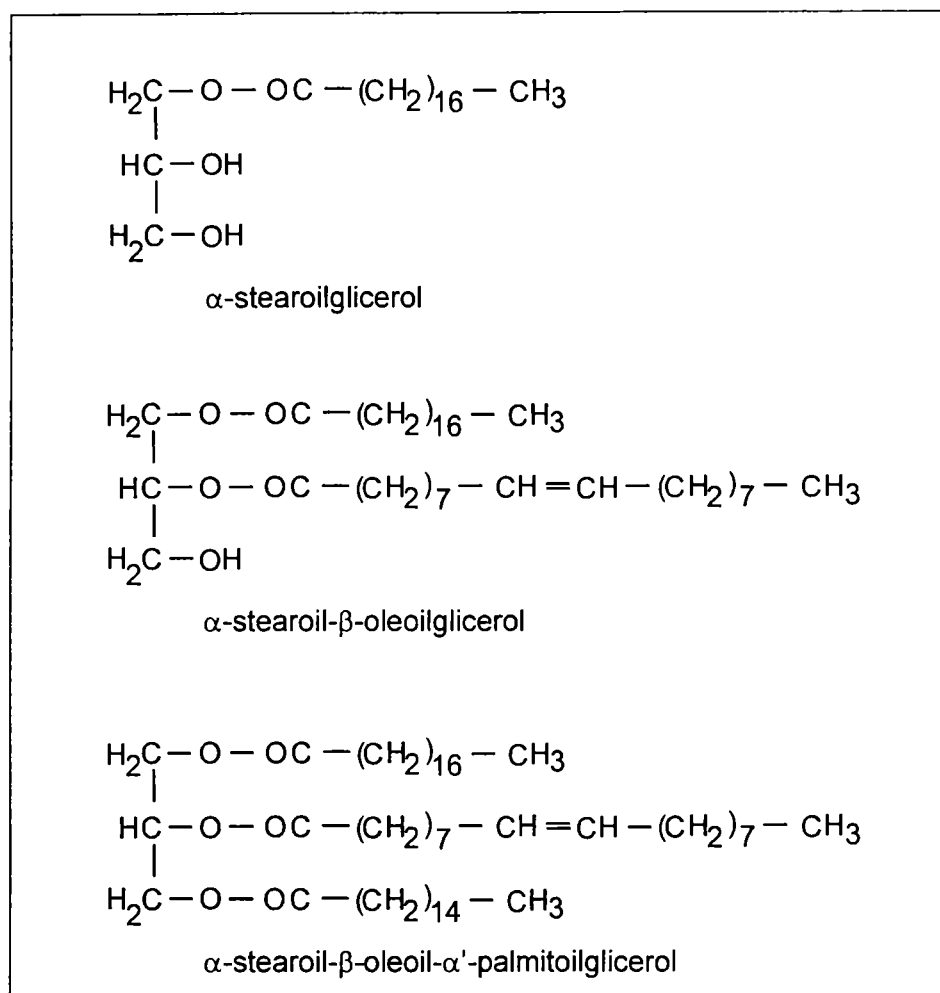


Fig.1-8. Structura chimică a unor mono-, di- și triacilgliceride

în constituția cărora se află, în special, acizi grași nesaturați. De asemenea, se disting grăsimi semisolide și solide, predominante în regnul animal, în constituția cărora se află, îndeosebi, acizi grași saturați.

Proprietățile chimice ale acilgliceridelor – având în vedere compoziția și structura acestora – sunt proprietățile generale ale esterilor (hidroliza) și proprietățile datorate resturilor de acizi grași (saponificare, adiția, oxidarea și autooxidarea) și de glicerol (esterificare și deshidratare). Aceste reacții specifice acilgliceridelor se regăsesc în procesele metabolice din organismul omului.

În natură, în general, și în organismul uman lipidele din această subclasă sunt dominați de triacilglicerolii micști. Mono- și diacilglicerolii se află în procesele metabolice. Acilglicerolii sunt prezenți – atât în regnul vegetal cât și în regnul animal. În majoritatea cazurilor se află sub formă de lipide de rezervă și în mică parte sub formă de lipide de constituție. La om și la animale lipidele de rezervă se acumulează în diverse țesuturi,

îndeosebi în țesutul adipos subcutanat. De aici sunt mobilizate, îndeosebi, pentru procesele specifice metabolismului energetic (energogeneză).

Steridele

Acești compuși se includ în subclasa lipidelor simple și sunt formate din diverși steroli și acizi grași superiori. Sterolii pot fi de origine – vegetală: sitosterol, stigmasterol, fucosterol etc.; de origine animală: colesterol, colestanol coprosterol, lanosterol etc.; de origine micotică (fungică): ergosterol, fungisterol etc.

În organismul uman predomină steridele cu conținut de colesterol. Acestea au fost decelate și în alimentele de origine animală. Primul produs izolat a fost stearatul de colesterol (fig.1-9).

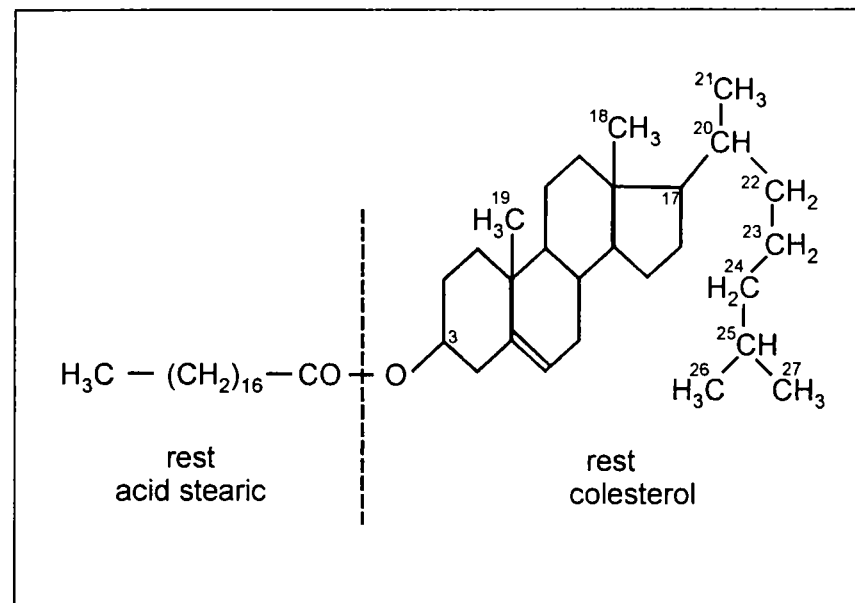


Fig.1-9. Stearat de colesteril – formula structurală

În mod curent, în alimente, se află zoosteroli și fitosteroli – considerați drept componenți ai macronutrienților lipidici. Aceștia se află atât în produsele alimentare procesate industrial cât și în preparatele culinare.

Steridele în stare pură sunt substanțe de culoare albă, solide, cristalizate. Nu sunt solubile în apă, dar formează cu acestea emulsii fine, stabile.

Se pot forma prin esterificare chimică – în mediu acid, sau biochimică în prezența unor enzime specifice (o astfel de enzimă este colinesteraza în cazul colesterolului).

În organismul uman se află steride ca și constituenți ai celulelor și țesuturilor, dar și a unor lichide biologice – în special sângele. Se află, de asemenea, acizi grași liberi și colesterol liber. Din acest considerent în numeroase lucrări de biochimie se vorbește despre colesterol liber și esterificat.

Problema colesetrolului, a importanței acestuia și a rolului biochimic sunt discutate în această lucrare, relevându-se rolul acestuia în predicția unor procese de interes patobiochimic.

1.2.2.2.2. Lipidele complexe

Lipidele complexe sunt formate din bioelemente ternare alături de care se pot afla alte elemente biogene (P, N, S) distingându-se în cazul: fosforului - lipide fosfatate (fosfatide); azotului - lipide azotate; sulfului - lipide sulfatate (sulfatide). În general, pentru lipidele complexe, este preferată o clasificare dependentă, în principal, de natura alcoolilor constituenți: glicerol-glicerofosfolipide; sfingozina-sfingolipide. O sumară prezentare a acestora se face în continuare.

a) *Glicerofosfolipide* - conțin glicerol, acid fosforic, acizi grași etc. În această grupă de compuși se includ: 1) *acizii fosfatidici* (conțin doar glicerol, acid fosforic și acizi grași); 2) *colaminfosfolipidele* (conțin în plus colamina); 3) *colinfosfolipidele* (conțin colina); 4) *serinfosfolipidele* (conțin aminoacidul serina); 5) *inozitolfosfolipidele* (conțin inozita sau inozitolul); 6) *acetal-fosfolipidele* (conțin grupări oxigenate, duble legături etc.)

b) *Sfingolipide* - conțin un aminoalcool – sfingozina, un acid gras, acid fosforic, o bază azotată sau o glucidă. În această grupă se includ: 1) *ceramidele* - derivați N-acilați ai sfingozinei în constituția cărora se află aminoalcoolul - sfingozina și diverși acizi grași superiori; 2) *sfingofosfolipidele* - care în structura de tip ceramidic pot conține un rest de fosforilcolamină sau fosforilcolină; 3) *sfingozidolipidele (sfingoglicolipidele)* - sunt sfingolipide care conțin oze, cum ar fi galactoza, glucoza etc., esterificate la hidroxilul de la C₁ al ceramidei (exemple: cerebrozide, ganglioziide, sulfatide ș.a.).

Dintre lipidele complexe o importanță aparte pentru problemele referitoare la fiziologia aparatului cardiovascular – discutată în această lucrare, prezintă glicerofosfolipidele și sfingolipidele (Vance și Vance, 2002). Acestea intervin mai frecvent în metabolismele materiale și metabolismul energetic. În continuare, vor fi prezentate succint aceste subclase de lipide complexe.

A. *Glicerofosfolipide.*

Glicerofosfolipidele sau glicerofosfatidele – așa cum s-a arătat – sunt lipide complexe care prin hidroliză eliberează glicerol, acizi grași, acid fosforic și, în funcție de natura derivaților: baze azotate simple – colamina sau colina; un acid aminat – serina; un rest glucidic – inozitolul.

Compusul de bază este *acidul fosfatidic* care, conține un rest de glicerol, două resturi de acizi grași și un rest de acid ortofosforic (fig.1-10). În funcție de atomul de C la care se

leagă gruparea fosfat se disting acidul α -fosfatidic și acidul β -fosfatidic. În exemplul prezentat s-a pornit de la acidul α -fosfatidic.

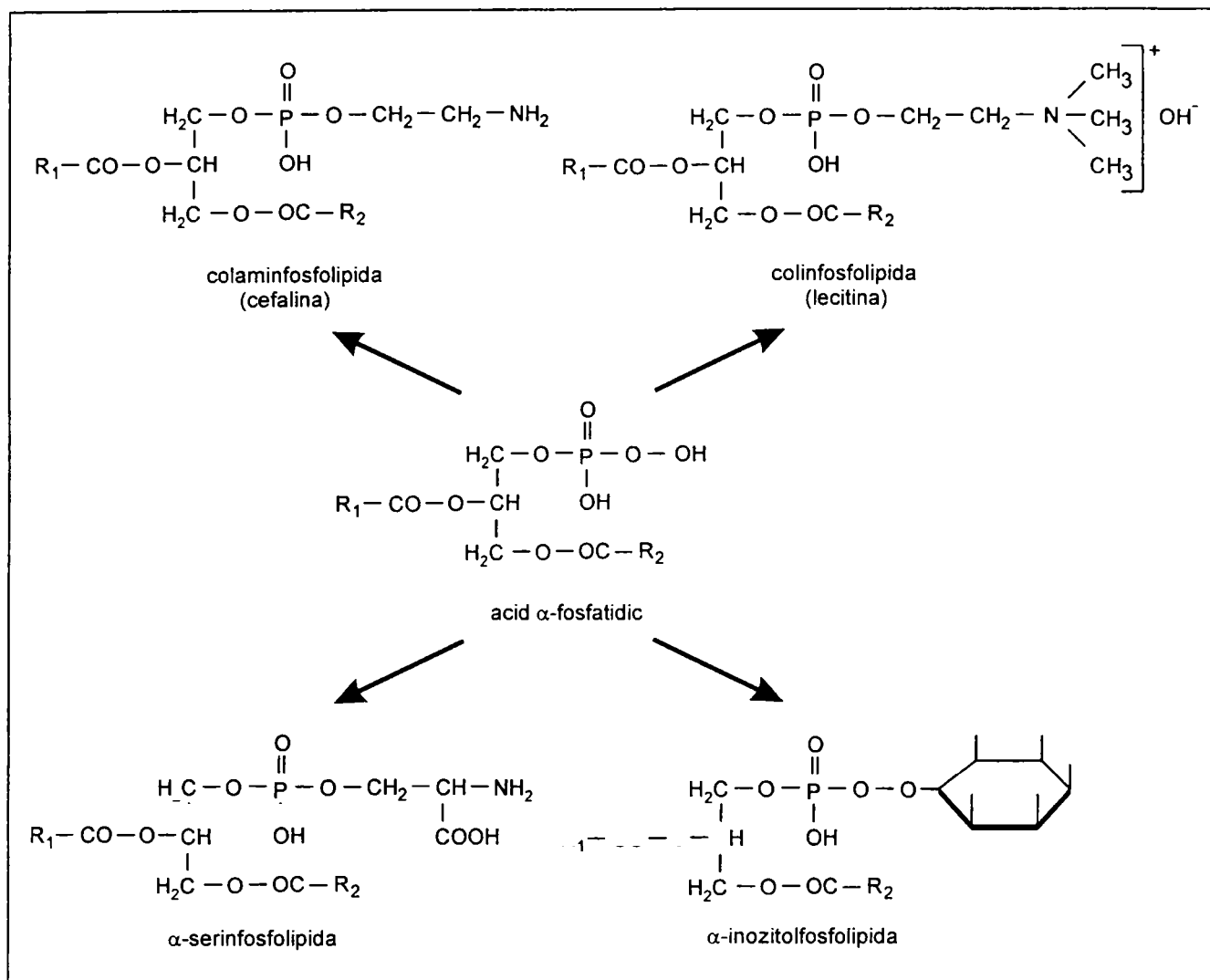


Fig.1-10. Acidul α -fosfatidic și principalii derivați specifici glicerofosfolipidelor

Sub aspect biochimic acești compuși sunt importanți în metabolismul lipidic, fiind prezenți la plante în organele vegetative și în germeni, iar în organismele animale și în organismul omului în ficat, rinichi și, îndeosebi, în țesutul nervos. Colaminfosfolipidele (cefalinele) au fost izolate inițial din țesutul cerebral la om și animale, ulterior au fost decelate și în germenii semințelor de plante. *Colinfosfolipidele* (lecitinele) au fost izolate inițial din gălbenușul de ou, ulterior din țesutul nervos, din ficat etc. Colina din acești compuși, după hidroliză poate participa la formarea acetilcolinei, muscarinei etc. (substanțe cu acțiune asupra sistemului nervos. *Serinfosfolipidele* s-au izolat din creier unde se află alături de cefaline. Cuantumul serinfosfolipidelor în creier este de cca 60% din totalul glicerofosfolipidelor. *Inozitolfosfolipidele* se află în creier, ficat, miocard. S-au decelat compușii monofosfoinozitol și difosfoinozitol. Mai mult, s-au decelat compuși care conțin și alte hexoze în locul

inozitolului, se exemplifică în acest sens: galactoză, manoză, glucoză, fapt care evidențiază importanța fiziologică a acestora.

B. Sfingolipide

La aceste lipide complexe caracteristică este prezența aminoalcoolului sfingozina. Sfingolipidele, așa cum s-a arătat, includ trei subclase de compuși: ceramide, sfingofosfolipide și sfingozidolipide (sfingoglicolipide). În cazul în care la sfingozină se leagă un acid gras se formează compusul de bază ceramida (fig.1-11). Din ceramidă se pot forma sfingofosfolipidele prin legarea unei grupări fosforil-colamină sau fosforil-colina, se exemplifică sfingomielină (Christie, 2003). De asemenea, din ceramidă se pot forma și sfingofosfolipidele. Acestea însă nu conțin gruparea fosfat.

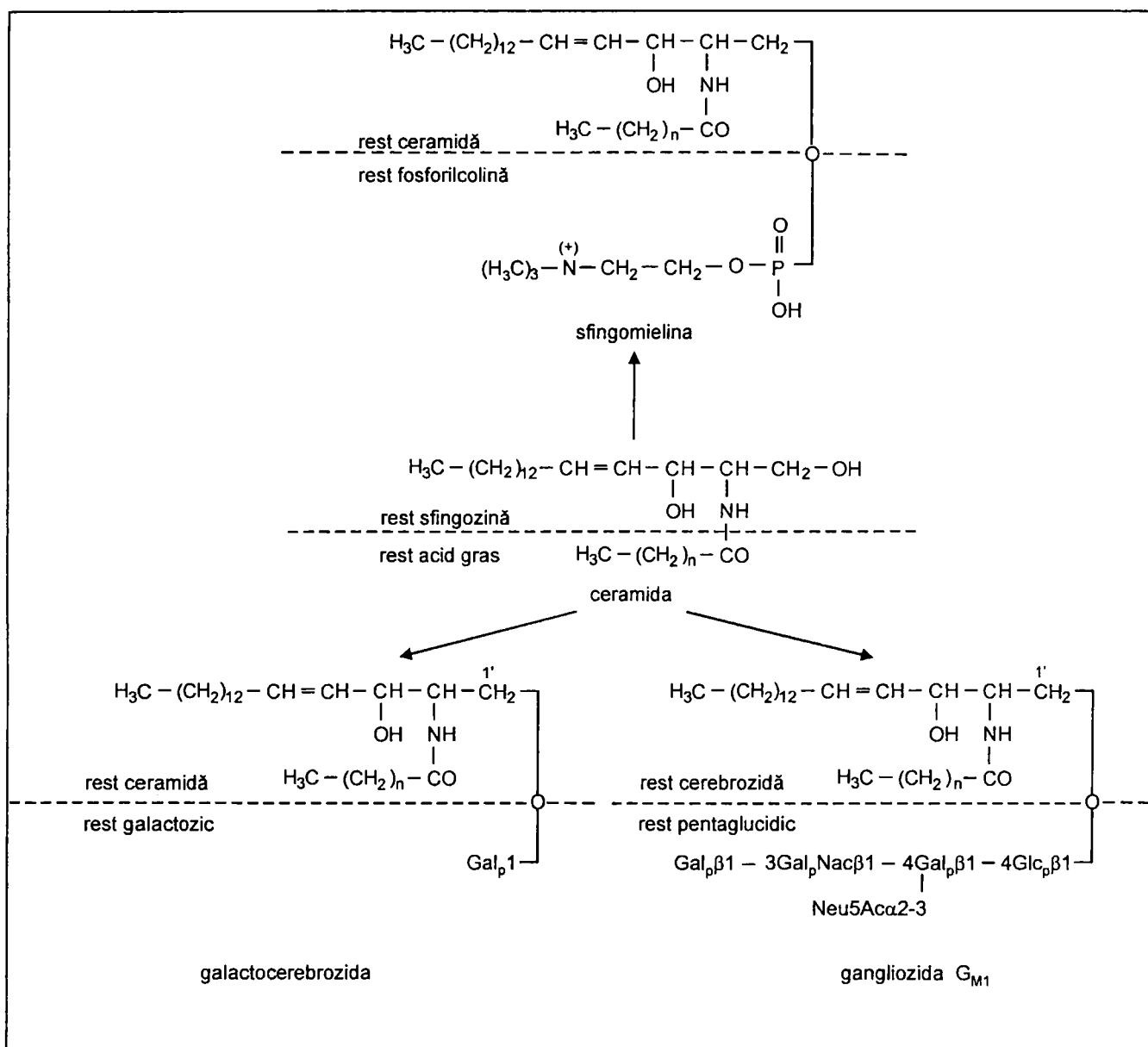


Fig.1-11. Sfingolipide – formule structurale

În sfingolipide se află însă și resturi glucidici din care mai importante sunt cerebrozidele și gangliozele. Cerebrozidele prezente în special în creier conțin un rest de oză leagat la C₁ al ceramidei. Oza poate fi glucoză, galactoză etc. S-a exemplificat galactocerebrozida. Important este acidul gras care definește cerebrozida, spre exemplu: în cerazina – se află acidul lignoceric; în cerebronă – acidul cerebronic (α -hidroxilignoceric); în nervonă – acidul nervonic etc. Gangliozele -prezente la nivelul terminațiilor nervoase și în cantități reduse în substanța cenușie din creier – conțin ceramidă și un rest de 3-5 monoglucide (în general), între care un rest de N-acetilgalactozamină, notată usual Gal-N-Ac și un rest de acid N-acetilneuraminic (acid sialic) – notat uzual Neu-5-Ac sau NANA. În exemplele date s-au prezentat formularea generală pentru galactocerebrozidă și ganglioza G_{M1}. Alături de acestea se mai pot menționa sulfocerebrozidele (sulfatidele) care conțin monoglucide cu grupări sulfonice, spre exemplu galactoză sulfonată la hidroxilul de la C₃.

În general, problema lipidelor din organism s-a cercetat în relație cu aportul exogen și metabolizarea, interesând patologia biochimică a aparatului cardiovascular, cerebrovascular și a sistemului nervos central și periferic (Gregoire, 1971; Gornall, 1986; Kristal și Yu, 1992; Salbe et al., 2002). Un domeniu de interes major al cercetării lipidelor care a vizat patologia moleculară și celulară se corelează cu problematica bolilor cardiovasculare.

Se estimează că în natură lipidele prezintă importanță biochimică, nutrițională, biomedicală și industrială (Mincu, 1993; Brody, 1994; Ensminger, 1995; Garban, 1999, Vance și Vance, 2002). Lipidele din materia vie au rol în procesele de morfogeneză și energogeneză

1.2.2.3. Structura chimică a lipoproteinelor

Lipoproteidele sau lipoproteinele reprezintă o clasă de substanțe cu compoziție mixtă în a căror constituție intră componente lipidice și protidice (Koch și Hanke, 1952; Armstrong, 1989; Murray et al., 1996; Matthews, 1997 ș.a.). Pentru prima dată lipoproteinele au fost izolate din plasma sanguină de cal, remarcându-se faptul că lipidele plasmatice sunt legate de proteine specifice (Rodier și Mallein, 1968; Knuiman et al., 1987).

Compuși din clasa lipoproteidelor se află predilect în celule (membrană, mitocondrii, reticul endoplasmatic, ș.a.) și în lichide biologice. Deși în biochimie și fiziologie s-a acreditat, în general, utilizarea termenului de “lipoproteide” (Brison, 1982; Mincu și Hâncu, 1983; Boulanger et al., 1989; McKee și McKee, 1996), în domeniul nutriției, chimiei clinice și fiziopatologiei se păstrează și denumirea mai veche de “lipoproteine” (Gunstone, 1983;

Kaplan și Pesce, 1984; Rhoades și Pflanzner, 1992; Brody, 1994; Christie, 2003). Din aceste considerente în cele ce urmează se vor utiliza de ambele denumiri, de altfel neexistând (încă) o impunere riguroasă a terminologiei în acest domeniu.

1.2.2.3.1. Structura lipoproteinelor

Sub raport structural lipoproteidele (lipoproteinele) sunt constituite dintr-o *componentă prostetică* - de natură lipidică, reprezentată de fosfolipide, triacilgliceride (trigliceride) sau steroli (în special colesterol liber și/sau esterificat) și o *componentă proteică* - constituită dintr-o polipeptidă.

Investigațiile bazate pe utilizarea metodelor analitice moderne au permis decelarea diverselor lipoproteine (LP), vizând predilect, lipoproteinele plasmatiche umane. Macromoleculele acestor compuși depășesc adesea masa moleculară de 10^6 Da și prezintă polaritate.

Din punctul de vedere al Biochimiei lipidelor (Lipidologiei), lipoproteinele pot fi considerate ca "agregate moleculare" ale căror particule au diametre variabile, cuprinse între 50 -10.000 Å. Diversele clase – reprezentate prin fracțiuni distincte sub raport fizico-chimic – prezintă variații remarcabile ale masei moleculare, densității, compoziției structurii chimice și activității biologice.

Apolipoproteinele (Apo-LP) sunt proteine care se află în lipoproteinele plasmatiche. Masa acestora se extinde pe domeniul 8.000- 35.000 Da și prezintă afinitate pentru fosfolipide. În notarea apolipoproteinelor se utilizează de simboluri literare, e.g.: ApoA, ApoB etc. Se cunosc mai multe clase de Apo-LP desemnate prin literele A, B, C, D etc. Uneori se mai adaugă și notații numerice (romane sau arabe) pentru a delimita activitatea imunologică. Detaliile referitoare la acestea depășesc însă cadrul acestei teze.

Datele fizico-chimice referitoare la lipoproteide (LP) relevă faptul că, sub raport constituțional, sunt formate din lipide neutre, triacilgliceride și colesterol-esteri. Acestea sunt înconjurate și stabilizate de către colesterolul liber, fosfolipide și apolipoproteinele intercalate între lipidele de suprafață.

Pentru definirea caracteristicilor structurale și a proprietăților fizico-chimice ale LP s-a procedat la determinări prin: ultracentrifugare – definindu-se constantele de sedimentare (sau inversul acestora – constantele de flotație); electroforeza – stabilindu-se mobilitatea electroforetică, respectiv fracțiunile și subfracțiunile cu care migrează LP.

Prin ultracentrifugare s-au decelat mai multe clase având în vedere densitatea lipoproteinelor și a fracțiunilor rezultate. În cercetările asupra lipoproteinelor din plasma

sanguină s-au decelat patru clase: lipoproteine cu densitate înaltă – HDL (high density lipoproteins); lipoproteine cu densitate scăzută – LDL (low density lipoproteins); lipoproteine cu densitate foarte scăzută – VLDL (very low density lipoproteins); chilomicroni – CM (chylomicrons).

Prin electroforeză (în cadrul migrării spre anod – anafereză) s-au decelat HDL – în fracțiunea α -globulinică; LDL – în fracțiunea β - globulinică; VLDL – în fracțiunea pre β -globulinică; CM – în fracțiunea de origine (de start).

Se remarcă faptul că în cadrul clasei HDL s-au decelat două subclase, notate uzual HDL₂ și HDL₃, distincte prin masele moleculare.

De asemenea, în cadrul clasei LDL s-au separat subclasele LDL₁ și LDL₂, deosebite prin densitate. Dintre acestea, LDL₁ numite și lipoproteine cu densitate intermediară – notate și prin IDL (intermediate density lipoproteins) au densitate mai scăzută decât LDL₂.

Un studiu asupra compoziției chimice globale a lipoproteinelor deci a relației dintre componenta proteică (proteine) și componenta prostetică (lipide) relevă procente mai mari de proteine la HDL (tabel 1-4.)

Tabel 1-4. Quantumul fracțiunilor proteinice și lipidice din diverse clase de lipoproteine

Specificare	Clase de lipoproteine					
	HDL		LDL		VLDL	CM
	HDL ₂	HDL ₃	LDL ₁ (IDL)	LDL ₂		
Proteine – total (%)	40 – 45	50 – 55	15 – 20	20 – 25	5 – 10	1,5 – 2,5
Lipide – total (%)	55	50	80 – 85	80 – 85	90 – 95	97 – 99

Proporțiile dintre lipidele nepolare, protide și lipidele polare determină proprietățile fizico-chimice, cum ar fi densitatea și încărcătura electrostatică a moleculelor. Regiunile hidrofile ale fosfolipidelor și proteinelor se află la suprafața moleculelor, iar regiunile hidrofobe ale lipidelor neutre se dispun spre interior.

Prin intervenția forțelor de legătură intermoleculare se constituie, cu participarea celor două componente, așa-numitele “cenapse lipoproteice”.

Structura moleculelor lipoproteidice este tributară forțelor van der Waals, dar și legăturilor polare (ionice). La formarea legăturilor polare concură grupări carboxilice (negative) ale unor aminoacizi din lanțurile polipeptidice, grupările colinice (pozitive) ale

colinfosfolipidelor, resturi de acid fosforic (negative) din glicerofosfolipide și unele grupări aminice (pozitive) ale aminoacizilor din polipeptide (Garban, 1999).

1.2.2.3.2. Activitatea biologică

Lipoproteinele sunt compuși importanți din punct de vedere fiziologic și fiziopatologic. Sub raportul activității biologice mai importante sunt lipoproteinele asociate cu α -globuline, dar mai ales cu β -globuline. În organismele omului și animalelor LP au roluri variate între care se menționează acelea de: constituenți celulari; mediatori ai permeabilității transmembranare; participanți la transportul unor bioconstituenți liposolubili (e.g.: vitamine, carotenoide, unii hormoni, medicamente ș.a.); vehicularea lipidelor necesare dezvoltării embrionare; “furnizor bioenergetic” etc (Baciu,1970; Gornall, 1986; Devlin, 1992; Hăulică, 1996).

În tabelul 1-5 se prezintă diversele grupe de lipoproteine, menționându-se constituenții de tipul apolipoproteinic și rolul biologic al acestora.

Tabel 1-5. Particularități constituționale și funcționale ale lipoproteinelor

Grupa de lipoproteine	Apo-lipoproteinele din compoziție	Rolul biologic al lipoproteinelor
Chilomicroni	A, B, C	transportul acizilor grași de la intestin până la celulele periferice
VLDL	B, C, E	transportul acizilor grași din ficat spre celulele periferice
LDL	B	transportul colesterolului din ficat spre celulele periferice
HDL	A	transportul colesterolului din celulele periferice spre ficat pentru eliminare

Dintre lipoproteide mai importante sunt LP plasmatică și LP serice, în speță: chilomicronii, α -lipoproteinele și β -lipoproteinele și albuminele legate de acizii grași neesterificați.

În accepția actuală se consideră că α -lipoproteinele au rolul de a menține în soluție lipidele provenite din surse exogene și endogene. Cu privire la β -lipoproteide – caracterizate printr-un conținut ridicat de triacilgliceride – se estimează că acestea au rolul de a vehicula, prin sânge aceste lipide.

1.2.2.3.3. Reprezentanți. Importanța

Lipoproteinele se găsesc în cantități mai însemnate în membranele celulare, mitocondrii, plasma sanguină (la om și animale), în gălbenușul de ou, în lapte etc.

Evaluându-se lipoproteidele plasmatice la subiecții normali – în funcție de caracteristicile ultracentrifugale și migrația electroforetică – s-au decelat următoarele aspecte:

- a) lipoproteine cu densitate ridicată – HDL la care migrația se produce cu fracțiunea α -globulinică
- b) lipoproteine cu densitate scăzută – LDL care migrează cu fracțiunea β -globulinică.
Cercetări mai recente au evidențiat și prezența unor lipoproteide cu densitate intermediară – IDL, care au fost puse în evidență prin electroforeza de zonă și fac parte din grupa LDL.
- c) lipoproteine cu densitate foarte scăzută – VLDL la care migrația se produce alături de pre β -lipoproteine și în măsură redusă cu α_2 -globulinele.
- d) chilomicronii – CM (Chylomicrons) – cu mobilitate zero.

Prezentarea generală a caracteristicilor fizico-chimice la diversele lipoproteine decelate în plasma sanguină la om se face în tabelul 1-6.

Tabel 1-6. Clase de lipoproteine plasmatice la om
(după Offord, 1979 – citat de Garban, 1999)

Clase de lipoproteine		Densitatea (g/ml)	Rata flotației (unitați Svedberg)	Masa moleculară (Da)	Diametrul particulei (Å)
HDL		1,063 – 1,210	–	$2 \cdot 10^5 - 4 \cdot 10^5$	50 – 130
LDL	LDL2	1,019 – 1,063	0 – 12	$2 \cdot 10^6$	200 – 280
	LDL1	1,006 – 1,019	12 – 20	$4,5 \cdot 10^6$	250
VLDL		0,950 – 1,0006	20 – 400	$4 \cdot 10^6 - 10^7$	250 – 750
CM		<0,950	>400	$10^9 - 10^{10}$	1000 – 10000

Apolipoproteinele (Apo-LP) ca și grupări prostetice de natură proteică se află asociate prin legături predominant non-covalente cu diversele lipide neutre și cu fosfolipidele formând clase distincte de lipoproteine.

Studiul apolipoproteinelor a condus la decelarea a șapte “tipuri” (denumite adesea “familii”), desemnate prin litere, e.g.: Apo-A, Apo-B etc. Fiecare clasă de lipoproteine are anumite tipuri de Apo-LP caracteristice (v. tabelul 1-7), e.g.: în HDL se află Apo A, Apo B, Apo C, Apo D, Apo E (nu se află Apo F și Apo G).

Tabel 1-7. Apolipoproteine din plasma sanguină umană – valori procentuale (după Offord, 1979; Stanbury et al., 1983- citați de Garban, 1999)

Tipuri de apolipoproteine Apo-LP	HDL		LDL		VLDL	CM
	HDL ₂	HDL ₃	LDL ₁ (IDL)	LDL ₂		
Apo A – I	85	70 – 75	0	urme	0 – 3	0 – 3
Apo A – II	5	20	0	urme	0 – 0,5	0 – 1,5
Apo B	0 – 2	0	–	–	0	1
Apo C – I	1 – 2	1 – 2	50 – 60	95 – 100	40 – 50	20 – 22
Apo C – II	1	1	< 1	0 – 5	5	5 – 10
Apo C – III	2 – 3	2 – 3	2,5	0,5	10	15
Apo D	0	1 – 2	17	0 – 5	20 – 25	40
Apo E	urme	0 – 5	17 – 20	0	5 – 10	5
Apo F	urme	urme	–	–	–	–
Apo G	urme	urme	–	–	–	–

Denumirea de apolipoproteine are în prezent un sens bine circumscris. În literatura de specialitate apar uneori confuzii între termenii de “apoproteine” și “apolipoproteine”. Privind, ca o sinteză informațională, datele asupra acestor compuși se poate considera că într-o proteină complexă (heteroproteidă) gruparea prostetică poate fi reprezentată de glucide (glucoproteide), lipide (lipoproteide), compuși colorați (cromoproteide) etc., iar gruparea proteică este reprezentată de o peptidă sau o proteină simplă (holoproteidă) care poate avea denumirea generică de “apoproteidă” sau “apoproteină”. Din acest considerent pot să apară unele erori în denominare.

Conceptul de apolipoproteine a fost propus de Fredrickson et al. în 1967 (citați de Mincu și Hâncu, 1976), odată cu propunerea de clasificare a componentelor proteice ale lipoproteinelor.

Extinderea cercetărilor asupra lipoproteinelor s-a făcut din considerente fiziologice și fiziopatologice. În afara acestora s-au izolat și studiat LP din anumite produse utilizate ca alimente, spre exemplu din gălbenușul de ou din care au fost izolate β-lipoproteine cu pondere moleculară 4×10^5 Da, și raportul lipide/protide de 22/78; din lapte au fost obținute alte β-lipoproteine specifice cu pondere moleculară 4×10^6 Da, raportul lipide/protide de 87/13. În ambele cazuri compoziția lipidică fiind dominată de fosfolipide.

1.3. LIPIDELE ÎN BIOCHIMIA DINAMICĂ

1.3.1. BIODEGRADAREA LIPIDELOR

Biodegradarea lipidelor, privită în ansamblu, poate fi considerată ca un proces de hidroliză enzimatică care se desfășoară - în funcție de natura substanțelor - pe diverse căi biochimice.

Procesul de hidroliză are loc sub acțiunea diverselor lipaze prezente în tractul digestiv care acționează asupra principiilor nutritive din grupa lipidelor (simple și complexe) care sunt descompuse până la metaboliți cu moleculă mică.

După digestie și absorbție, lipidele cu moleculă mică trec în circulația sanguină, de aici în țesuturi și celule unde are loc metabolizarea (Rapoport, 1977; Goodwin și Mercer, 1983; Stryer, 1996).

Reacțiile de catabolizare (biodegradare) ale lipidelor vor fi prezentate având în vedere prioritar compoziția primară a acestora, i.e. constituenții de fond: *acizii grași* (saturați, nesaturați, cu catenă ramificată etc) și *compușii hidroxilici* (glicerol, alcooli superiori, aminoalcooli, steroli etc).

Compușii menționați, prin esterificare, participă la formarea lipidelor propriului organism în cadrul anabolismului.

1.3.1.1. Biodegradarea lipidelor simple

În cazul acestora interesează biodegradarea care se produce îndeosebi la principalele subclase de compuși: 1) *triacilgliceride* - se descompun până la acizi grași și glicerol; 2) *steride* - se descompun până la acizi grași și steroli; 3) *ceride* - se descompun în acizi grași și alcooli superiori. În continuare acizii grași, glicerolul, sterolii ș.a. sunt biodegradați pe căi specifice (Rapoport, 1977; Armstrong, 1989; Davidson și Sittman, 1994 ș.a.).

1.3.1.1.1. Biodegradarea acilgliceridelor

Investigarea biodegradării acilgliceridelor prezintă interes prioritar datorită cantumului ridicat al acestei grupe de compuși din constituția lipidelor. În mod curent, în literatura de specialitate se discută despre biodegradarea enzimatică a triacilgliceridelor, care se realizează în etape succesive, evoluând spre di-acilgliceride, mono-acilgliceride și, în final, în produși de hidroliză totală.

Degradarea acilgliceridelor se realizează sub acțiunea enzimei *acil-gliceratkinaza* în prezența ATP-ului. Ulterior participă enzima *acil-glicerol-fosfat-dehidrogenaza* și sistemul $\text{NAD}^+/\text{NADH} + \text{H}^+$. Prin biodegradare se formează în final glicerolul (în etape derivați ai acestuia) și acizii grași.

Reacția de catabolizare a triacilgliceridelor (în regnul vegetal și animal) este caracterizată printr-un proces de hidroliză în urma căruia se formează gliceroli și acizi grași. În general, reacția este cunoscută sub denumirea generică de “lipoliză”, la aceasta participând enzime specifice numite lipaze. Lipazele aparțin enzimelor din clasa hidrolazelor (E.C. 3.1).

Cu referire la biodegradarea triacilgliceridelor se menționează faptul că reacția se desfășoară la interfața lipide-apă pentru considerentul că triacilgliceridei (aparținând clasei lipidelor simple) sunt insolubili în apă, iar enzimele hidrolitice, în speță lipazele, au o compoziție proteică și sunt solubile în apă.

Având în vedere aceste observații se înțelege că viteza de biodegradare a triacilgliceridelor în organism este condiționată de mărimea suprafeței de contact care constituie interfața lipide-apă.

În organismele animalelor și omului biodegradarea triacilgliceridelor este facilitată de mișcările peristaltice ale intestinului care determină modificări permanente ale suprafeței de contact, precum și de efectele emulsionării lipidelor cu acizii biliari care sunt deversați la nivelul duodenului.

Cu privire la lipaze se menționează că acestea sunt prezente atât în microorganisme precum și în organismele plantelor, animalelor și omului. Din punctul de vedere al acțiunii enzimatică, lipazele au o largă “specificitate de substrat”. În acest sens se precizează că lipazele pot descompune în mod curent diverși esteri ai glicerolului (1,2,3-propantiolului) dar și esterii unor alcooli monohidroxilici (în biochimie situația aceasta se întâlnește în cazul ceridelor).

În funcție de proveniență, lipazele diferă prin pH-ul optim de activitate. Astfel, spre exemplu, lipaza pancreatică are pH-ul optim 8,0-8,1. Lipazele din microorganisme și din țesuturile vegetale au pH-ul optim sub 6,0 - în cazul lipazei din *Aspergillus niger* pH-ul optim este 5,6. Lipaza din boabe de ricin are pH optim variabil la valorile de 4,0 - 5,4.

Procesul de absorbție al produșilor de biodegradare: acizii grași, 1,2-diacil-gliceridele, 2-monoacilgliceridele are loc la nivelul mucoasei intestinale, proces pregătit de lipaza pancreatică și facilitat de acizii biliari care asigură emulsionarea în cadrul “ciclului entero-hepatic”. La nivelul mucoasei intestinale, în celulele acesteia - numite enterocite - se produce o conversie a produșilor de biodegradare menționați mai sus din care se formează triacilgliceridele. Aceștia împreună cu

anumite fracțiuni proteice generează lipoproteinele numite chilomicroni care au aspect de particule sferice și sunt transferate din intestin în circulația sanguină.

În afară de *lipaza pancreatică* a cărei acțiune a fost prezentată mai sus, în organism s-a mai izolat o *lipază serică* - prezentă în serul sanguin - care a fost denumită *lipoproteinlipaza*. De asemenea, se cunoaște faptul că în țesutul adipos există o lipază specifică produsă de adipocite și numită *lipaza adipocitară*.

Cu referire la lipoproteinlipaza, prezentă în serul sanguin, se cunoaște faptul că aceasta intervine în hidroliza triacilgliceridelor din constituția chilomicronilor precum și a altor lipoproteine, până la acizi grași liberi (AGL) și glicerol. Acest proces are loc în vasele capilare din țesutul adipos și din mușchii scheletici. Acizii grași astfel eliberați pot participa la biosinteza de lipide. Deficitul de lipoproteinlipază poate reprezenta o afecțiune ereditară, situație în care se instalează, în timp, o hiperlipemie esențială, caracterizată îndeosebi prin hiperchilomicronemie (creșterea exacerbată a cantității chilomicronilor în sânge).

În ceea ce privește lipaza adipocitară, prezentă în țesutul adipos, este remarcabil faptul că aceasta este funcțională în acest țesut, iar activitatea este reglată, în principal, de doi hormoni: adrenalina și glucagonul. Acțiunea hormonilor rezidă în activarea adenozinmonofosfatului ciclic (cAMP) care se formează din adenzinotriofosfat (ATP) sub acțiunea enzimei adenilatciclaza.

În țesutul adipos cAMP activează proteinkinaza care conduce la fosforilarea lipazei adipocitare transformând-o în enzimă activă. Prin acest mecanism hormonal se produce lipoliza cu mobilizarea triacilgliceridelor din "lipidele de rezervă" prezente în țesutul adipos. Din acestea se va forma glicerol și acizi grași care vor pătrunde în sânge unde se vor lega de o fracțiune albuminică. În sânge se pot forma complecși de tipul acid gras-albumină care perturbă structurile proteice tisulare afectând și ultrastructurile unor membrane. Aceste reacții, cu implicarea hormonilor, pot oferi unele explicații privind apariția "dislipidemiilor" în patologia biochimică.

1.3.1.1.2. Biodegradarea steridelor

Catabolismul la steride are în vedere faptul că o primă etapă de biodegradare conduce la formarea de steroli (zoo-, fito- sau micosteroli) și acizi grași diferiți.

Acizii grași urmează căile biochimice degradative descrise anterior, i.e. biodegradările prin β -oxidare, ω -oxidare și respectiv α -oxidare. Dintre acestea dominantă este biodegradarea prin β -oxidare.

Sterolii în continuare sunt biodegradați pe căi specifice - importantă în acest sens biodegradarea colesterolului. Între zoosteroli se includ colesterolul, colestanolul, coprostanolul, lanosterolul ș.a. Fitosterolii mai cunoscuți sunt: *brassicasterolul* ($\Delta^{5,22}$ - 24 β - metil sterol) - izolat din Brassica rapa; *campesterolul* (Δ^5 - 24 α metil sterol) - cu distribuție largă în regnul vegetal; *spinasterol* ($\Delta^{7,22}$ - 24 Δ etil sterol) - prezent în Spinaceae oleraceae; *fucosterol* (Δ^5 - 24 etildien sterol) - izolat din alga brună Fucus spp.; *avenasterol* (Δ^7 - 24 etildien sterol) - prezent în Avena sativa; *24-metilen-cholesterol* ($\Delta^{5,24}$ - metilen sterol) - decelat în polen, *sitosterol*, *stigmasterol* etc.

Extrem de interesante sunt datele referitoare la sterolii decelați în organismele animale și în organismele vegetale. În acest sens se menționează faptul că există hormoni steroizi animalii care prin investigații bioanalitice au fost decelați în plante, spre exemplu: *progesteronul* - hormon produs de ovar în corpus luteum (corpul galben) și în placentă, a fost izolat din planta *Hollarrhena floribunda*; *androstantriolul* - hormon sintetizat în testicul, a fost decelat și în planta *Haplopappus heterophyllus*; *deoxicorticosteronul* - hormon care se formează în corticosuprarenală, a fost decelat și în planta *Digitalis lanata*.

Aceste date obținute prin perfectarea aplicațiilor chimiei bioanalitice, atestă complexitatea structurală a bioconstituenților din clasa steridelor și diversitatea căilor biochimice specifice metabolismului în regnul animal și vegetal.

1.3.1.2. Biosinteza lipidelor

În organism biosinteza lipidelor se realizează din metaboliții proveniți din nutrienții de natură lipidică de aport exogen (prin alimente), dar și de la compuși lipidici endogeni rezultați din procese de biosinteză care pornesc de la glucide sau de la protide (așa numiții "aminoacizi glucoformatori" care, în ultimă instanță, conduc la lipide). Așa se explică faptul că o dietă bogată în glucide favorizează depunerea de lipide, deci formarea așa numitelor lipide de rezervă (Rawn, 1991; Neamțu, 1997).

1.3.1.2.1. Biosinteza acilgliceridelor

Anabolismul triacilgliceridelor se află, în principal, la originea lipogenezei în organismele animalelor și omului. Reacțiile de biosinteză se desfășoară predilect în ficat și în țesutul adipos (în care se află lipidele de rezervă). În microorganisme precum și în plante se

realizează, de asemenea, procese de biosinteză a triacilgliceridelor care conduc la formarea lipidelor de rezervă.

Triacilgliceridele, în concepția primelor abordări asupra anabolismului, se credea că provin din esterificarea glicerolului cu trei molecule de acizi grași identici sau diferiți. Se credea că această reacție este posibilă direct și este reversibilă reacției de hidroliză a triacilgliceridelor.

Cercetări asupra biosintezei triacilgliceridelor, efectuate cu acizi grași “marcați izotopic” au condus la concluzia că în realitate reacția se desfășoară având drept precursori derivați ai glicerolului și anume glicerol-3-fosfat și dihidroxiacetonfosfatul. Procesul de biosinteză pornește de la derivații menționați și diverși acizi grași (saturați, nesaturați, cu catena ramificată etc.) și se desfășoară în trei etape distincte, prezentate schematic în fig.1-12.

Etapa 1: Biosinteza glicerol-3-fosfatului. Această se realizează pe 2 căi: a) prima cale pornește de la glicerol, care în prezența enzimei *glicerolkinaza* și a ATP conduce la glicerol-3-fosfat; b) secunda cale are la origine dihidroxiacetonfosfatul care în prezența enzimei *glicerol-3-fosfatdehidrogenaza* și a $\text{NADH} + \text{H}^+$ formează glicerol-3-fosfatul.

Se remarcă faptul că în procesul de biosinteză a triacilgliceridelor, acizii grași nu pot reacționa direct cu derivații fosfatați ai glicerolului. Reacția se produce în situația în care acizii grași se află în forma activată de tipul acil coenzima A ($\text{Acil}\sim\text{S}\text{-CoA}$). Pentru aceștia se folosește adesea notarea $\text{R}=\text{CO}\sim\text{S}\text{-CoA}$. Reacțiile caracteristice sunt redată în etapa următoare.

Etapa 2: Biosinteza diacilglicerol-3-fosfatului (acidului fosfatidic). Procesul de acilare necesită prezența glicerol-3-fosfatului format în etapa 1 și a unei molecule de acil coenzima A ($\text{R}_1\text{-CO}\sim\text{S}\text{-CoA}$) și se realizează sub acțiunea enzimei *glicerol-3-fosfat-aciltransferaza*. În urma reacției rezultă 1-acil-glicerol-3-fosfat. Acesta, în continuare, în prezența unei alte molecule de acil-coenzima A ($\text{R}_2\text{-CO}\sim\text{S}\text{-CoA}$) și a enzimei *1-acil-glicerol-3-fosfat-aciltransferaza* se transformă în 1,2-diacilglicerol-3-fosfat numit și acid fosfatidic.

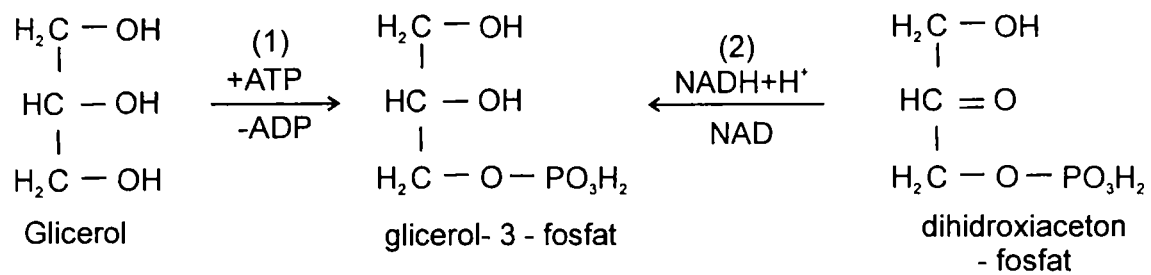
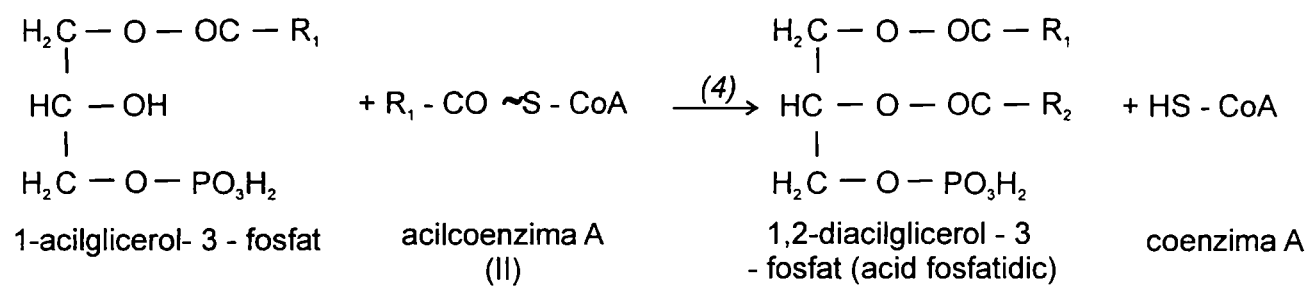
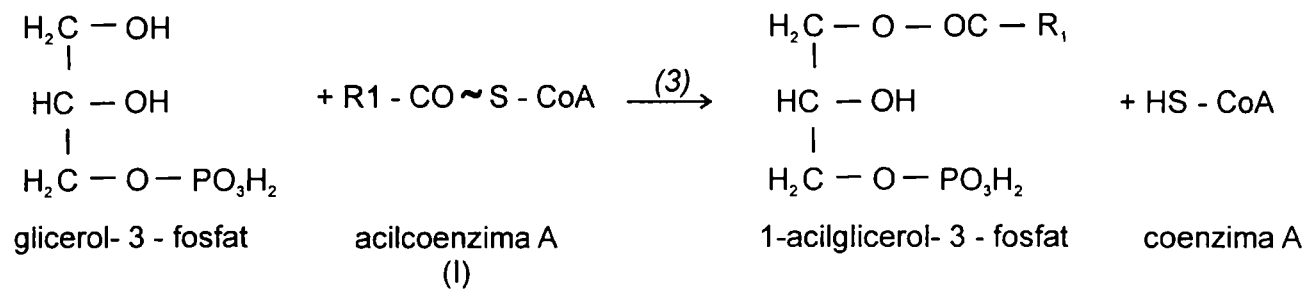
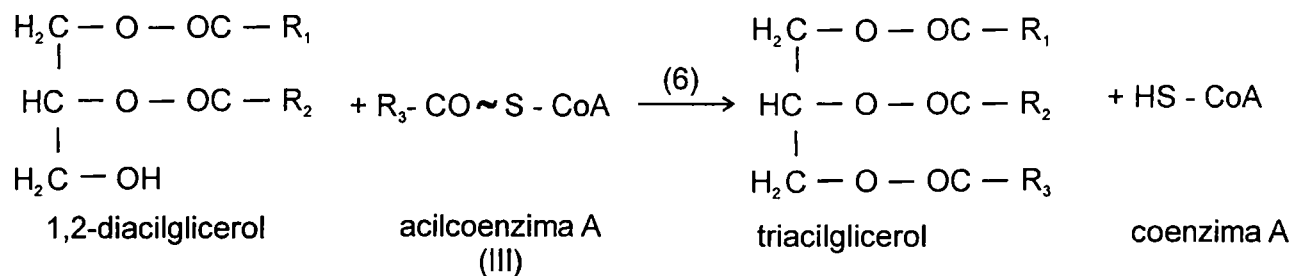
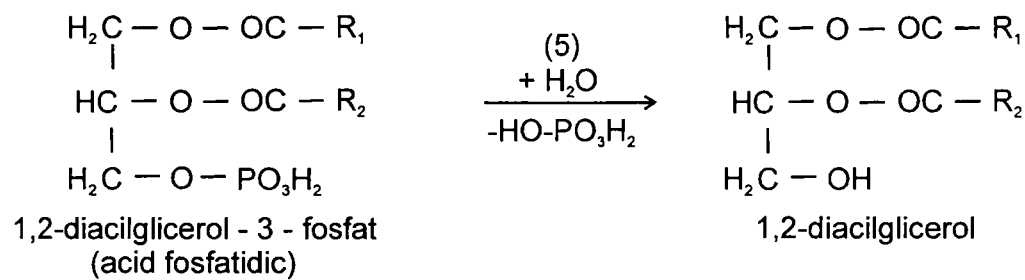
Etapa 1**Etapa 2****Etapa 3**

Fig.1-12. Biosinteza triacilgliceridelor (schemă generală)

Privind succesiunea celor două reacții din etapa 2-a se poate spune, la modul general, că glicerol-3-fosfatul a parcurs două reacții de condensare succesive cu molecule de acil-coenzima A. Moleculele de acil-coenzima A pot fi identice sau diferite. La finele celor două condensări s-a format acidul fosfatidic.

Etapa 3: Biosinteza triacilglicerolului. În această etapă 1,2-diacilglicerol-3-fosfatul (acidul fosfatidic), prin hidroliză, în prezența enzimei *fosfatidat-fosfataza* suferă o conversie formându-se 1,2-diacilglicerolul. În continuare, acest compus în prezența unei noi molecule de acil-coenzima A se transformă în triacilglicerol - produsul final al biosintezei. Deci, privind în ansamblu succesiunea de reacții din etapele 1-3 se observă că de la glicerol, în urma unor reacții de fosforilare, două condensări (cu acil-coenzima A), defosforilare și o terță condensare se formează triacilglicerolul.

Alături de discutarea etapelor caracteristice pentru biosinteza triacilgliceridelor pornind de la glicerol-3-fosfat - prezentate mai sus - se impune remarca că există și o cale secundară (v.Mincu - 1993) pentru biosinteza triacilgliceridelor. În cazul acestei căi reacțiile pornesc de la dihidroxiacetonfosfat care suferă o condensare cu o moleculă de acil-coenzima A în prezența enzimei *dihidroxiacetonaciltransferaza*. Din această reacție rezultă 1-acildihidroxi-aceton-fosfat care în prezența $\text{NADH} + \text{H}^+$ și a enzimei *acildihidroxiacetonfosfatreductaza* formează 1-acil-glicerol-3-fosfatul.

1.3.1.2.2. Biosinteza steridelor

Pentru biosinteza steridelor este necesară prezența precursorilor care participă la esterificare, i.e.: sterolii (aparținând diverselor clase) și acizii grași superiori. Anabolismul steridelor se realizează în etape distincte vizând biosinteza sterolilor în special a colesterolului și separat biosinteza acizilor grași.

Sterolii - diferă în funcție de structură (interesând predilect catenele grefate pe steran și poziția legăturilor duble) și în funcție de regnul biologic: zoosteroli (la animale): colesterol, colestanol, lanosterol etc.; fitosteroli (la plante): sitosterol, stigmasterol, fucosterol etc.; micosteroli (în fungi): ergosterolul. În organismul uman s-a constatat că în interval de 24 ore se sintetizează 1-2 g de colesterol, cca 75% fiind produs în țesutul hepatic, iar restul în țesuturi extrahepatice.

Acizii grași - aparțin diverselor clase în funcție de catenă existând acizi grași cu catenă lineară (saturați, nesaturați), cu catenă ramificată etc. Aceștia se regăsesc în compoziția diverselor steride.

Biosinteza steridelor devine posibilă după formarea sterolilor și a acizilor grași constituenți. Se exemplifică cazul palmitatului de colesteril întâlnit în organismul uman și animal și a oleatului de camposteril cu o largă distribuție în plante. Biosinteza steridelor se realizează prin reacții de esterificare specifice.

În țesuturile animalelor și omului se află diverse steride care conțin predominant colesterolul, spre exemplu: palmitatul de colesteril. În țesuturile vegetale se află steride specifice, spre exemplu stearatul de camposterol.

Metabolizarea colesteridelor prezente în organismul uman este asigurată de prezența unor enzime specifice - *colesterol-esterazele*. Acestea se găsesc în sistemele lipoproteice. De asemenea, sunt produse de pancreas și elaborate în secreția exocrină. Aceste enzime intervin atât în biosinteza cât și în scindarea hidrolitică a colesteridelor. Reacția de esterificare dintre colesterol și acizi grași are loc predilect în hepatocite fiind controlată prin activitatea enzimei de tipul acid gras-transacilaze specifice dependente de coenzima A.

În cazul sistemelor lipoproteice de transport aflate în plasma sanguină sau limfă se produc - în cantități mai reduse - colesteride prin reacția de transesterificare la care participă enzime specifice.

În cazul reacțiilor prezentate se formează din colesterol o colesteridă, iar din lecitină se formează lizolecitina. Enzima care intervine în acest caz este *lecitin-colesterol-acil-transferaza (LCAT)*. Această enzimă are specificitate pentru colesteride și lecitine.

Problema biosintezei steridelor este importantă atât pentru regnul vegetal cât și pentru regnul animal. Aceste steride se vor afla în compoziția macronutrienților lipidici.

Având în vedere importanța sterolului, îndeosebi a colesterolului, în biochimie îndeosebi în patologia biochimică medicală (i.e. patobiocimia medicală) se discută separat, distinct biosinteza sterolilor.

Studiul biosintezei sterolilor, bazat pe criterii de acuratețe, a fost posibil doar după introducerea metodelor izotopice în cercetările de biochimie (folosirea așa numitelor molecule cu "atomi marcați"). În acest mod s-a dovedit că în organismul animal sinteza colesterolului poate porni de la acidul acetic. În acest sens au fost efectuate experimente cu acetat de sodiu care conținea ^{14}C în cadrul grupării metil: $^{14}\text{CH}_3 - \text{COONa}$ sau în cadrul grupării car-boxilice $\text{CH}_3 - ^{14}\text{COONa}$. Experimente au fost efectuate pe șobolani în al căror ficat s-a urmărit turnoverul metabolic al colesterolului.

Investigații bioanalitice asupra colesterolului au arătat că în molecula acestuia 15 atomi provin din grupări metil (-CH₃) și 12 provin din grupări carboxilice (-COOH) realizând totalul de 27 atomi de carbon din moleculă.

Principalul intermediar între acidul acetic inițial și colesterolul rezultat prin biosinteză este squalenul. Din punct de vedere structural saqualenul este o triterpenoidă - recte o hidrocarbură cu formula brută C₃₀H₅₀. Structura squalenului fost stabilită de Heilbron (1929). În molecula squalenului se pot identifica două jumătăți simetrice, identice constitutiv formate însă printr-o inversare a izopentanilor constituenți la mijlocul moleculei.

În cursul biosintezei, din squalen - compus cu catenă liniară - se formează lanosterolul - compus ciclizat care, asemănător squalenului, are 30 de atomi de carbon în moleculă. În chimia organică studiul acestei molecule se face în cadrul clasei triterpenoidelor, iar în accepția biochimiei se folosește și denumirea de trimetilsteroid (spre a evidenția similitudinile cu steranul).

Biosinteza colesterolului, de fapt, se realizează de la restul acetyl care este legat de coenzima A (HS-CoA). Deși în experimentul efectuat pe animale se utiliza acetat de sodiu "marcat" cu ¹⁴C, în realitate biosinteza are ca precursor acetyl-coenzima A (acetyl-CoA).

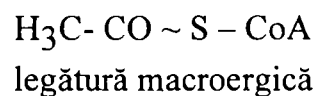
Folosindu-se izotopii carbonului ¹³C și ¹⁴C, cercetările experimentale au arătat că mecanismul biosintezei colesterolului are ca produs de plecare acetyl-coenzima A (notat uzual H₃C - CO ~ S - CoA). Ca substanță cheie în biosinteză este menționat acidul mevalonic.

Prin combinarea a două molecule de acetyl-CoA în prezența enzimei *tiolază* rezultă aceto-acetyl-CoA. Aceasta, în prezența unei noi molecule de acetyl-CoA și a enzimei *hidroximetil glutaril-sintetaza* (notată uzual HMG-CoA sintetaza) va forma beta-hidroxibeta-metil glutaril CoA. În continuare acest compus, în prezența enzimei *hidroximetil glutaril-reductaza* (notată HMG-CoA reductaza) care are drept coenzimă NADP⁺ va forma acidul mevalonic, eliberând o moleculă de HS-CoA.

Acidul mevalonic a fost pentru prima dată identificat ca "factor de creștere" pentru bacteria *Lactobacillus acidophilus* și apoi a fost izolat din drojdie. Ulterior, în experimente efectuate pe animale și în culturi de țesuturi animale (ficat de șobolan), s-a constatat că acidul mevalonic se transformă în colesterol cu viteză mai mare decât acetatul de sodiu sau acidul acetic (marcate radioactiv).

Se pare că metabolitul intermediar - în sinteza terpenoidelor (i.e. squalen) și apoi a colesterolului - nu este, de fapt, acidul mevalonic. Având în vedere modul de legare și rolul coenzimei A s-a considerat că, de fapt, în biosinteza colesterolului intervine aldehida acidului mevalonic care se poate combina cu coenzima A (Stryer, 1996).

Aceste considerații sunt perfect posibile având în vedere faptul că în activitatea coenzimei A se află grupa tiolică –SH. Aceasta aparține cisteaminei din constituția CoA. În țesuturi se află acetil-CoA, în molecula căreia legătura dintre acetil și HS-CoA este o legătură macroergică (cu o energie de cca 8200 cal/mol)



În cazul transformării grupării acetil ($\text{H}_3\text{C}-\text{CO}-$) pe un alt acceptor, energia eliberată nu se pierde. Această energie este transferată unei reacții cuplate. Cuplarea se realizează cu formarea ATP din ADP și fosfat anorganic (Pi). Acest fapt este confirmat de faptul că HS-CoA nu activează doar gruparea ($\text{H}_3\text{C} - \text{CO} -$), având posibilitatea de-a activa și alte grupări de tip acil ($\text{R} - \text{CO} -$) cum ar fi: gruparea succinil – în cadrul ciclului acizilor tricarbocilici (ciclul Krebs); grupări acil ale resturilor de acizi grași superiori în cursul metabolizării (v. spirala Lynen) etc.

Dacă se urmărește metabolismul acidului mevalonic se va întâlni o reacție de defosforilare $\text{ATP} \longrightarrow \text{ADP}$ cu formarea unui pirofosfat, fapt care a condus la ipoteza că acțiunea CoA se extinde și asupra derivaților acidului mevalonic.

Biosinteza squalenului, pornind de la acidul mevalonic (acidul beta, tetra-dihidroxi-beta-metil-valerianic) se evidențiază existența unei succesiuni de reacții, prin care are loc o elongare a catenei cu formare de squalen.

Astfel, acidul mevalonic după interacții succesive cu două molecule de ATP formează acid mevalonic-5-pirofosfatul (C_6). Acesta în urma decarboxilării și dezhidratării va forma izopentil-pirofosfatul - IPP (C_5). Acesta, în continuare, se va condensa cu o nouă moleculă de IPP rezultând geranil-pirofosfatul – GPP (C_{10}).

După o nouă condensare cu altă moleculă de IPP va forma farnesil-pirofosfatul – FPP (C_{15}). După acest moment se va putea produce o condensare a două molecule de FPP (cu caracteristici de tautomerie) rezultând squalenul. Produsul format se va afla la originea biosintezei colesterolului. Squalenul, cu formula $\text{C}_{30}\text{H}_{50}$, are caracteristicile unei hidrocarburi nesaturate cu 6 duble legături.

Biosinteza colesterolului pornește de la squalen. Pentru aceasta într-o reacție inițială are loc – sub acțiunea enzimei *squalen-epoxidaza* – formarea squalen-2,3-epoxidului. În continuare se produce ciclizarea acestui compus sub acțiunea unui “sistem enzimatic” cunoscut sub denumirea de *2,3-epoxisqualen-lanosterol-ciclaza*. Noul compus are structură steroidică. Reacțiile următoare conduc la formarea unor compuși steroidici intermediari (spre

exemplu zimosterol, desmosterol etc.) cu participarea a numeroase enzime specifice. În final, se formează colesterolul.

Sub aspect structural în organism colesterolul se poate afla legat de diverși acizi grași – sub formă de esteri (astfel sunt colesteridele) sau sub formă liberă. Colesterolul liber și/sau esterificat este prezent în organism fie ca și component ultrastructural (în biomembrane, în citoplasmă etc.), fie ca și component al sistemelor lipoproteice de transport (lipoproteine cu densitate mare – HDL , lipoproteine cu densitate mică – LDL etc.).

În fiziologie și biochimie se discută adesea faptul că lipoproteinele cu densitate mare (HDL) asigură, în principal, transportul colesterolului spre ficat. Spre deosebire de acestea, lipoproteinele cu densitate mică (LDL) sau foarte mică (VLDL) participă la transportul colesterolului dinspre ficat spre țesuturi, fapt care explică nocivitatea crescută a LDL colesterolului.

Se mai impune menționarea faptului că în organism colesterolul provine predilect din aport exogen, din macroconstitenți lipidici, dar poate fi sintetizat și în țesuturi. Un quantum crescut este sintetizat în ficat (75%) deoarece în citoplasma hepatocitelor sunt produse predilect sistemele multienzimatice care concucră la biosinteză. Cantități mai reduse de colesterol sunt sintetizate în glandele suprarenale, gonade și alte țesuturi (25%).

1.4. LIPIDELE ÎN NUTRIȚIE ȘI CHIMIA ALIMENTARĂ

În nutriție și chimia alimentară problema lipidelor, în mod curent, este discutată pornind de la diverse produse alimentare de origine animală și/sau vegetală distingându-se constituenți reprezentați de lipide simple, e.g.: triacilgliceride (trigliceride), acizi grași liberi (AGL), steride și de lipide complexe, e.g.: glicerofosfolipide și sfingolipide. Problemele referitoare la compuși micști e.g.: lipoproteine, lipoglucide (menționate curent în literatura de specialitate cu denumirea de “glucolipide”) ș.a. sunt studiate mai detaliat în chimia clinică și se corelează cu problemele patologiei biochimice în dislipidemii (Guthrie, 1975; Mincu și Hâncu, 1976; Häder și Häder, 1993; Garban, 1999).

Lipidele, ca macronutrienți, prezintă câteva particularități importante, între acestea menționându-se: valoarea energetică ridicată în raport cu glucidele și protidele; rolul de solvenți pentru vitaminele liposolubile (A, D, E, K) și provitaminele A; rolul de solvenți pentru alte substanțe biologic active (e.g. carotenoide, hormoni etc.); posibilitatea de a fi consumate în alimentație ca atare (spre deosebire de unele glucide și protide, care necesită o prealabilă preparare culinară); participarea la formarea lipidelor de constituție și a lipidelor de

depozit; rolul de protecție a unor organe (rinichi, ficat); contribuția la menținerea temperaturii constante a corpului etc.

1.4.1. PRINCIPII NUTRITIVE LIPIDICE

În rația alimentară lipidele, denumite de nutriționiști în mod curent “grăsimi”, constituie o importantă categorie de principii nutritive. Necesarul de lipide în alimentația omului se evaluează sub raport calitativ și cantitativ.

Din punct de vedere calitativ lipidele sunt apreciate pentru considerentul că reprezintă principii alimentare cu cea mai ridicată valoare energetică (9,3 Kcal/g). Se estimează că grăsimile alimentare furnizează cca. 25-35% din necesarul energetic în perioada juvenilă (copii și adolescenți) și cca. 25-30% la adulți.

Sub aspect cantitativ grăsimile alimentare, în condițiile unei alimentații raționale, trebuie să includă 1/3-1/2 grăsimi vegetale din totalul grăsimilor consumate. În acest mod se asigură un aport de lipide cu acizi grași polienoici (esențiali), cunoscuți uzual sub denumirea de acizi grași polinesaturați – PUFA (Polyunsaturated Fatty Acids). Prezența acizilor grași este impusă de rigorile unei alimentații raționale.

Lipidele, ca principii nutritive, prezintă câteva particularități importante, între acestea menționându-se: valoarea energetică ridicată a lipidelor în raport cu glucidele și protidele; rolul de solvenți pentru vitaminele liposolubile (A, D, E, K) și provitaminele A; rolul de solvenți pentru alte substanțe biologic active (e.g. carotenoide, hormoni etc.); posibilitatea de a fi consumate în alimentație ca atare (spre deosebire de unele glucide și protide, care necesită o prealabilă preparare culinară); participarea la formarea lipidelor de depozit cu rol în protecția diverselor organe (rinichi, ficat) și menținerea temperaturii constante a corpului.

Din punctul de vedere al nutriționiștilor este important a avea în vedere cuantumul acizilor grași din lipide, distingându-se alimente cu conținut ridicat de: acizi grași saturați, e.g.: unt, smântână, frișcă, margarină, unt de cocos; acizi grași monoenoici, exemplu: ulei de măsline, ulei de arahide, gălbenuș de ou; acizi grași polienoici, exemplu: ulei de pește, ulei de floarea soarelui, ulei de soia, ulei de porumb ș.a.

În relația nutriție-patologie biochimică se menționează faptul că raportul optim: acizi grași nesaturați / acizi grași saturați este la cca 0,8 (în literatura de specialitate se întâlnește frecvent exprimarea grăsimi nesaturate, respectiv grăsimi saturate). Un raport crescut (peste 0,8) are acțiune hipercolesterolemiantă.

Referindu-ne doar la acizii grași nesaturați din seriile ω -6 și ω -3, se precizează că acizii grași din seria ω -3 au acțiune antiaterogenă mai intensă, caracterizată prin reducerea nivelului seric al colesterolului, triacilgliceridelor și LDL-colesterolului. Ultimul dintre aceștia, LDL-colesterolul, are efecte intens aterogene. Deci, prezența acizilor grași din seria ω -3 reduce riscul aterogen.

Sub raport biomedical s-a mai constatat că un quantum mai ridicat de acizi grași nesaturați în rația alimentară contribuie la scăderea agregabilității plachetelor sanguine (trombocitelor), la creșterea timpului de coagulare și la vasodilatație.

Studii asupra problemelor nutriționale relevă necesitatea respectării anumitor raporturi în privința principiilor nutritive din rația alimentară. Astfel, spre exemplu, se recomandă în rațiile alimentare, existența unor raporturi cantitative ale principiilor nutritive: glucide/ protide de 3,5-5, respectiv lipide/protide 1-1,5. Evident aceste raporturi sunt condiționate de starea fiziologică a organismului, tipul de activitate socio-profesională ș.a. În acest context se remarcă și faptul că temperaturile scăzute, mediul cu umiditate crescută impun creșterea quantumului principiilor nutritive lipidice la 35-40% din valoarea rației alimentare (Mincu și Hâncu, 1983).

Consumul alimentar de lipide este mai mare la populațiile din zonele cu climat polar, motivat de insuficiența resurselor alimentare (situația se întâlnește la eschimoși). La aceste populații a apărut o anumită “adaptare” a metabolismului, cunoscându-se faptul că în cazul creșterii consumului de lipide în detrimentul glucidelor pot să apară tulburări metabolice (caracteristică este starea de cetoză).

În general, cu privire la lipidele din rația alimentară se face evaluarea quantumului lipidelor ingerate ca atare, precum și a lipidelor prezente în constituția diverselor alimente prelucrate culinar sau procesate industrial.

1.4.2. DIGESTIA ȘI ABSORBȚIA LIPIDELOR

Lipidele existente în materia vie, asemănător glucidelor, concură la procesele de energogeneză și morfogeneză. Digestia lipidelor, urmată de absorbția acestora asigură integrarea în procesele metabolice.

1.4.2.1. Digestia lipidelor

În cavitatea bucală nu există enzime specifice pentru digestia lipidelor. În procesele preliminare digestiei propriu zise, alimentele sunt transformate până la nivel de “bol alimentar”, care traversează faringele și esofagul ajungând în stomac.

Digestia lipidelor începe la nivelul stomacului unde intervine lipaza gastrică. Acțiunea acesteia este limitată doar la lipidele aflate sub formă emulsionată, cum sunt, spre exemplu, lipidele prezente în lapte și unele produse lactate.

În intestinul subțire asupra lipidelor acționează lipaza pancreatică a cărei activitate se desfășoară la pH optim de 7 – 8 și în prezența cationilor Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} și a anionilor: clorură (Cl^-), carbonat (CO_3^{2-}) și bicarbonat (HCO_3^-). Acțiunea acestei lipaze vizează predilect hidroliza triacilgliceridelor (trigliceridelor). Acțiunea hidrolitică se realizează în prima etapă la legăturile esterice ($-\text{O}-\text{OC}-$) de la C_1 și C_3 al moleculei de acilgliceridă și treptat (mai încet) la legătura esterică de la C_2 al moleculei de acilglicerol. În urma acțiunii lipazei pancreatice se realizează o stare de relativ echilibru în raportul:

triacilgliceride / di- și monoacilgliceroli / acizi grași liberi,

care este de ordinul 10 / 10 / 80

De asemenea, la nivelul intestinului subțire acționează o altă lipază cunoscută sub numele de lecitinază. Aceasta asigură hidroliza glicerofosfolipidelor și sfingofosfolipidelor cu formarea de acizi grași, glicerofosfat etc.

În intestinul subțire mai are loc și un proces de emulsionare a lipidelor, proces care concură acizii biliari (sub formă salifiată), lecitina și monoacilglicerolii. Lipidele emulsionate se prezintă sub forma unor miceli cvasisferice cu diametre de 3–10 μm . Formarea miceliilor contribuie la creșterea suprafețelor particulelor și prin aceasta este facilitată acțiunea lipazelor și a transportului lipidelor la nivelul vilozităților intestinale.

O altă grupă de lipide – steridele (care conțin predilect zoo- și fitosteroli), sunt descompuse, de asemenea, la nivelul intestinului subțire. În acest sens se exemplifică acțiunea colesterolesterazei care produce hidroliza cu eliberarea de colesterol și acid gras.

Lipidele aflate în intestinul subțire, așa cum s-a arătat, sunt emulsionate prin acțiunea sărurilor biliare. Emulsionarea contribuie la reducerea tensiunii superficiale. De asemenea, odată cu avansarea proceselor hidrolitice se produce o “încărcare electrochimică” a produșilor de hidroliză, explicată de prezența acizilor grași liberi (AGL), în mediu apar compuși cu sarcini ionice.

În acest mediu se produce, de asemenea, reacția de amidificare a acizilor grași cu glicerolul și taurina. În urma acestei reacții se formează acizii glicocolici și taurocolici. Produșii de hidroliză ai lipidelor aflați în intestinul subțire sunt vehiculați prin mucoasa intestinală, trecând astfel în circulație.

1.4.2.2. Absorbția lipidelor

Procesele de absorbție pentru metabolizii lipidici rezultați din digestie au loc la nivelul intestinului subțire, predilect în jejun și în ileon. Se estimează că în condiții normale lipidele sunt absorbite în proporție de 95% și eliminate pe cale digestivă 5%. Evident la acest quantum al eliminării alături de lipidele nedigerate se mai află cantități foarte mici de lipide provenite din celulele intestinale descumate și din celulele bacteriene prezente în tubul digestiv.

Acizii grași prezintă particularități ale absorbției. Astfel acizii grași cu catene sub 12 atomi de carbon ajung în sângele din vena portă și apoi în ficat. Glicerolul nefosforilat este de asemeni transportat prin vena portă spre ficat. Acizii grași cu catenă mai mare decât 12 atomi de carbon (de fapt majoritatea acizilor grași) participă la reacții de esterificare în celulele mucoasei gastrice formând triacilgliceride (trigliceride). Acești compuși sunt transportați apoi prin vasele limfatiche. În celulele mucoasei gastrice pătrund de asemenea mono- și digliceride care sunt transformate până la trigliceride urmând apoi transportul pe cale limfatică.

În cazul colesterolului absorbția este dependentă de prezența altor lipide (nesteridice), prezența acizilor biliari și de quantumul sucului pancreatic, care conține lipaze – enzime necesare proceselor catabolice. S-a constatat că prezența grăsimilor vegetale în rație realizează o competitivitate de absorbție în raport cu colesterolul: se produce depresia absorbției de colesterol. Există competitivitate și în raport cu diverși steroli, e.g.: ergosterolul este absorbit mai lent în raport cu colesterolul.

În sistemul limfatic – care va prelua majoritatea lipidelor digerate – se află limfa în care obișnuit se află acizi grași fin emulsionați. Postprandial limfa devine lactescentă datorită picăturilor constituite din compuși lipidici și existența sub forma de “chilomicroni” cu diametre de 0,1 – 0,5 micrometri (mm). În compoziția chilomicronilor se află, în medie: triacilgliceride 83%; fosfolipide 7%; esteri ai colesterolului 6%; colesterol liber 2% și chiar proteide 2%. Chilomicronii se mențin în circulație cca 4 ore de la momentul consumului de lipide. Quantumul total al lipidelor din sânge constituie o caracteristică metabolică denumită “lipemie”, care se menține prin homeostazia biochimică.

În digestia și absorbția lipidelor este important a se avea în vedere și posibilitățile legate de absorbția vitaminelor liposolubile (vitaminele A, D, E, K). Aceste aspecte fac obiectul de interes al biochimiei și nutriției. În domeniul Nutriției vitaminele (hidro- și liposolubile) alături de bioelemente se includ în grupa micronutrienților.

1.4.3. DISTRIBUȚIA LIPIDELOR ÎN PRODUSE DE INTERES ALIMENTAR

În discutarea caracteristicilor nutriționale ale “macronutrienților lipidici” - este importantă și cunoașterea distribuției naturale a acestora. Există o anumită intercondiționare între distribuția naturală a lipidelor alimentare și consumul alimentar de macronutrienți lipidici (Guthrie, 1975; Champe și Harvey, 1987; Hăulică, 1996; Gârban și Gârban, 2003).

Se cunoaște faptul că în cazul creșterii exacerbate a consumului de lipide în detrimentul glucidelor pot să apară tulburări metabolice (reprezentativă în acest sens este starea de cetoză).

Consumul de nutrienți lipidici este condiționat de starea fiziologică a organismului, tipul de activitate socio-profesională ș.a. (Heald, 1966; Pereira et al., 1997; Tyroler, 1999; Coon et al., 2001). În acest context se remarcă și faptul că temperaturile scăzute, mediul cu umiditate crescută impun creșterea cuantumului principiilor nutritive lipidice la 35-40% din valoarea rației alimentare (Mincu, 1993).

Compușii de natură lipidică ajunși în organismul uman în urma digestiei, absorbției și metabolizării se pot grupa în două categorii distincte: *lipide de constituție* și *lipide de rezervă*.

Lipidele de constituție - se află în cantități mai reduse și sunt reprezentate prin lipide simple, din subclasele: triacilgliceride, steride, și prin lipide complexe de tipul glicerofosfolipidelor și sfingolipidelor. Aceste lipide se află în citoplasma celulară și în membrana celulară (membrană lipoproteică). De remarcat că lipidele de constituție prezintă o specificitate de organ, așa numita organo-specificitate.

Lipidele de rezervă - în mare măsură sunt de tipul triacilgliceride. Acestea reprezintă surse energetice pentru organism. Se depun predilect în țesuturile periviscerale, la nivelul celulelor mezenchimatoase și în țesutul conjunctiv, la nivelul celulelor numite adipocite. Lipidele de rezervă nu sunt substanțe stocate. S-a constatat experimental, pe animale de laborator, utilizând lipide alimentare marcate cu deuteriu ^2H (deuterate) că există un perpetuu schimb, un echilibru dinamic, între acizii grași din țesutul adipos, recte din adipocite și acizii grași din alimente.

Studii asupra digestiei și absorbției lipidelor au dus la constatarea că sub raport nutrițional în celulele din vilozitățile intestinale se absorb acizii grași cu 12 sau mai mulți atomi de carbon din acilgliceride, prezenți în lumenul digestiv, precum și mono- și digliceride din care se sintetizează triacilgliceride. Acizii grași cu mai puțin de 12 atomi de carbon după absorbție sunt transportați pe calea venei porte la ficat. Triacilgliceridele care conțin acizi grași cu 12 sau mai mulți atomi de carbon trec sub forma unei emulsii fine în sistemul limfatic. Ca urmare limfa – la scurt timp după consumul de lipide - are un caracter lactescent (aspect tulbure), datorită

particulelor fine de triacilgliceride prezente sub forma de chilomicroni (care conțin fosfolipide, colesterol esterificat, colesterol liber, precum și proteine reziduale).

Pentru o înțelegere și explicitare mai riguroasă a caracteristicilor nutriționale ale macronutrienților lipidici se impune discutarea particularităților definitorii pentru metabolismul lipidic, recte catabolismul și anabolismul lipidelor. În acest context, fără a apela excesiv la formule chimice, se vor prezenta doar date generale.

Distribuția lipidelor în principalele produse alimentare de origine vegetală este redată în tabelul 1-8. Evaluarea cantumului lipidelor s-a făcut doar în raport cu părțile edibile din aceste alimente.

Tabel 1-8. Cantumul mediu al lipidelor din produse alimentare de origine vegetală (în g / 100 g părți edibile)

Fructe	Lipide (%)	Legume, cereale și plante oleaginoase	Lipide (%)
Afine	0,60	Cartofi	0,11
Alune (miezi)	64,40	Castraveți	0,20
Ananas	0,15	Ceapă	0,25
Arahide	49,00	Ciuperci	0,24
Avocado	26,40	Conopidă	0,28
Banane	0,18	Dovleac (semințe)	47,40
Caise	0,40	Fasole boabe	2,00
Căpșuni	0,50	Floarea soarelui (miezi)	32,30
Cireșe	0,50	Grâu	2,00
Coacăze	0,30	Mazăre verde	0,48
Fistic	54,00	Măslina (olive)	50,00
Gutui	0,50	Morcovi	0,20
Măceșe	1,20	Muștar	29,00-36,00
Mere	0,40	Porumb	3,00-5,00
Migdale	54,10	Salată	0,22
Mure	1,40	Secară, orz	2,00
Nuci (miezi)	60,00	Sfeclă roșie	0,10
Nuci cocos (miezi)	48,80	Soia	20,00
Pere	0,40	Spanac	0,30
Piersici	0,11	Tomate	0,21
Portocale	0,20	Țelină	0,33
Prune	0,17	Usturoi	0,12
Smochine	1,20	Varză albă	0,20
Struguri	0,28	Varză roșie	0,18
Zmeură	1,60	Vinete	0,18

Referitor la lipidele de interes alimentar din produse vegetale și animale o importanță aparte prezintă relația dintre sursele de produse și clasele de lipide care intră în constituția acestora. Se menționează în acest sens faptul că în produsele alimentare de origine vegetală predomină triacilgliceride, glicerofosfolipidele, acizii grași liberi.

De asemenea, dintre acizii grași într-un quantum ridicat se află acizii grași nesaturați. Prezența acestora a determinat orientarea spre industrializarea grăsimilor vegetale. În acest scop s-a dezvoltat industria pentru procesarea margarinei (bazată, în principal, pe hidrogenarea grăsimilor vegetale).

În tabelul 1-9 se prezintă date referitoare la distribuția lipidelor în produsele alimentare de origine animală.

Tabel 1-9. Cuantumul mediu al lipidelor din produse alimentare de origine animală (în g / 100 g produs)

Specificare (carne și alte produse)		Lipide (%)	Specificare (carne pasăre și pește)		Lipide (%)
Porc	Carcasă (standard)	52,00	Pasăre	Găină	24,80
	Bacon	69,30		Rață	28,60
Bovine	Carcasă (standard)	21,00		Gâscă	31,50
Lapte	Vacă	3,40		Curcă	14,70
	Oaie	6,18	Pește	Crap	4,20
Ou	Integral (lichid)	9,50		Hering	2,60
	Gălbenuș (lichid)	24,00		Cod	0,30
	Albuș	< 0,4		Somon	13,40

În produsele alimentare de origine animală predomină triacilgliceridele, steridele, glicerofosfolipidele, sfingolipidele.

Cantități mai mari de lipide au fost izolate din carnea de porc și carnea de pasăre (gâscă, rață, găină). Dintre pești un quantum mai mare de lipide a fost decelat în somon.

De asemenea, s-au izolat lipoproteine (îndeosebi în carne și ouă). Asupra formei de prezentare se menționează că lipidele din lapte se află sub formă de emulsii fine în care s-au

decelat aproape toți acizii grași de la C₄ (acid butiric) la C₂₄ (acid lignoceric) și acizii grași nesaturați prezenți în triacilgliceride, steride, glicerofosfolipide.

Din punct de vedere alimentar lipidele din lapte au digestibilitate maximă comparativ cu lipidele din alte produse alimentare.

2. IMPORTANȚA STUDIULUI LIPIDELOR ÎN CHIMIA CLINICĂ ȘI PATOLOGIA BIOCHIMICĂ

2.1. CONSIDERAȚII GENERALE

Componentele lipidice din țesuturi și lichide biologice au făcut obiectul unor aprofundate studii de biochimie, chimie clinică și patologii biochimică. Modificările homeostazice ale acestora interesează fiziologia și fiziopatologia.

În chimia clinică și patologia biochimică s-a circumscris un domeniu special al “lipidologiei” care vizează studiul homeostaziei lipidelor și lipoproteinelor, a perturbărilor care conduc la dishomeostazie cu implicații medicale (Gregoire, 1971; Foster și Burton, 1985; Gornall, 1986; Voet și Voet, 1990; Falkner et al., 2002; Freeman, 2004).

Investigarea compoziției lipidelor sanguine, plasmatice și/sau serice, la om suscită interes în primul rând pentru considerentul că variațiile homeostaziei biochimice continue, fiind dependente de aportul exogen (alimentar) și endogen (metabolic). În al doilea rând existența unei dishomeostazii, în speță a unei dislipidemii și dislipoproteinemii, se corelează cu perturbări morfofuncționale importante în patologia biochimică.

Detalii asupra cantitatii lipidelor plasmatice (valori normale) se prezintă, după Feuer și Iglesia (1985), în tabelul 2-1. Se remarcă un cantum mai ridicat - în condiții normale - la triacilgliceride (trigliceride), lipide fosfatate și colesterol

Tabel 2-1. Particularități constituționale și concentrația lipidelor plasmatice (după Feuer și Iglesia, 1985)

Nr. crt.	Specificare fracțiuni lipidice		Concentrația (mg/dL)	
1	Triacilgliceride (trigliceride)		80 – 180	
2	Lipide fosfatate - total	Glicerofosfolipide	colaminfosfolipide	50 – 130
			colinfosfolipide	20 – 200
		Sfingolipide	sfingofosfolipide	15 – 35
3	Colesterol		total	107 – 320
			liber (neesterificat)	26 – 106
4	Acizii grași liberi – neesterificați		6 – 16	
Lipide total			310 – 860	

2.2. METODE DE INVESTIGARE ALE LIPIDELOR ÎN BIOCHIMIE ȘI CHIMIA CLINICĂ

În mod curent în chimia clinică sunt investigate lipidele totale și diverse grupe de compuși lipidici – cunoscute sub denumirea generică de “fracțiuni lipidice” - prezente în sânge. Între acestea se menționează: triacilgliceridele (TAG) numite și trigliceride (TG); colesterolul (COL); acizii grași liberi (AGL) etc.

2.2.1. INVESTIGAȚII DE LABORATOR PENTRU LIPIDE ȘI FRAȚIUNI LIPIDICE

2.2.1.1. Metode de identificare a lipidelor

În studiul lipidelor se folosesc în mod curent metode analitice calitative bazate pe reacțiile specifice ale esterilor lipidici sau ale acizilor grași și diverșilor alcooli constituenți. În anumite cazuri metodele analitice calitative s-au pretat la adaptarea pentru determinări cantitative. În acest subcapitol se prezintă generalități asupra așa numitelor “metode de identificare” care, de fapt, aparțin grupului metodelor analitice calitative.

Cu referire la metodele de identificare se prezintă: reacții specifice pentru acilgliceride, steride și chiar pentru acizi grași.

A. Reacții specifice acilgliceridelor. În acest cadru se prezintă reacțiile de hidroliză, dezhidratare și autooxidare.

a) Reacția de hidroliză bazică. Acilgliceridele în prezența hidroxizilor bazici (NaOH sau KOH) se scindează hidrolitic rezultând glicerolul și săruri ale acizilor grași constituenți – numite săpunuri. Se menționează că săpunuri pot forma și alți hidroxizi metalici – acestea însă prezintă interes redus pentru biochimie. Săpunurile - ca săruri metalice ale acizilor grași – pot fi hidrolizate în mediu acid (în laborator hidroliza acestora se face în prezența H_2SO_4).

b) Reacția de identificare prin formarea acroleinei. Glicerolul din acilgliceride în prezența unui compus dezhidratant ($KHSO_4$) și la cald, se poate dezhidrata cu formare de acroleină. Degajarea vaporilor de acroleină, care se pot identifica cu o hârtie de filtru special tratată (cu HN_4OH și $AgNO_3$) atestă finalizarea reacției. Deci, specificitatea reacției este dată de glicerol.

c) Reacția de verificare a autooxidării la acilgliceride. Procesul de autooxidare (râncezire) rezidă în hidroliza acilgliceridelor cu formare de glicerol și acizi grași. Acizii grași rezultați prin oxidare se scindează cu formarea unor derivați volatili cu miros neplăcut. Gradul

de autooxidare (râncezire) se pune în evidență prin reacția de culoare cu fluoro- glucină și rezidă în virarea culorii de roșu la violet.

B. Reacții specifice steridelor. Steridele prin specificul nucleului macrociclic steranic (gonanic) hidroxilat la C₃ și esterificat prin acest hidroxil, dau reacții caracteristice. Principalele reacții sunt redate în continuare.

a) Reacția Liebermann-Burchardt. Este caracteristică pentru steride. Se utilizează frecvent pentru identificarea steridelor cu conținut de colesterol (din sânge și țesuturi). În prezența aldehidei acetice și acidului sulfuric, nucleul steranic dă o reacție de culoare: prin virajul de la culoarea albastră spre verde.

b) Reacția Salkowski. Este dată de steridele care conțin colesterol. În prezența de clorură ferică și acid sulfuric în mediu de cloroform se produce o separare în două straturi: stratul superior (mediu cloroformic) – colorat roșu; stratul inferior (mediu cu H₂SO₄) – colorat galben-verzui.

C. Reacții specifice dependente de acizii grași. Între reacțiile dependente de acizii grași din lipide se menționează reacțiile cu iodul și cu fosfovanilina.

a) Reacția de adiție a halogenilor. Se datorează acizilor grași nesaturați care, în prezența de halogeni (Br₂ sau I₂) dau reacția respectivă. Halogenul se folosește în soluție cloroformică. Urmărirea reacției se face prin observarea decolorării soluției ca o consecință a adiției halogenului.

b) Reacția cu fosfovanilină. Această reacție este specifică pentru acizii grași eliberați la hidroliza lipidelor. Se folosește reactivul “preparat extemporaneu” (amestecul de KHPO₄ și vanilină). Proba cu conținut de lipide se pune la fierbere pentru producerea hidrolizei. Se adaugă apoi reactivul fosfovanilina după care se observă apariția unei culori roșie-violacee.

Metodele de identificare prezentate, sunt utilizate pentru determinări care necesită expeditivitate, pentru demonstrații de laborator în biochimie, oferind informații generale asupra lipidelor. Unele metode de identificare au fost adaptate pentru determinări cantitative ale lipidelor.

2.2.1.2. Metode de dozare a lipidelor

Metodele cantitative sunt denumite adesea, în chimia clinică și biochimie, ca metode de dozare. Statusul sanguin (mai exact plasmatic sau seric) al lipidelor totale și al diverșilor bioconstituenți de natură lipidică face obiectul determinărilor analitice prin metodele chimiei clinice. Scopul investigațiilor de laborator interesează aspectele fiziologice și fiziopatologice, vizând diagnosticarea dislipidemiilor (Franke et al., 1977; Kaplan și Pesce, 1984; Devlin, 1992 ș. a.).

În acest context se urmărește, spre exemplu, hiperlipidemia – considerată ca o perturbare a homeostaziei lipidelor, caracterizată prin creșterea excesivă a uneia sau mai multor fracțiuni lipidice de interes major, e.g.: triacilgliceride (TAG); colesterol (COL). La baza modificărilor homeostazice stau adesea anomalii ale metabolismului lipidic, care pot conduce la dislipidemii (Benson și Fensom, 1985; Cucuianu et al., 1991; Devlin, 1992; Hickman, 1998; Gardner et al., 2000). Cele mai frecvente modificări rezidă în hipertriacilglicerolemie (denumită adesea și hipertri-glicerolemie) sau în hipercolesterolemie și - în numeroase cazuri - a ambelor.

Investigarea lipidelor plasmatice și / sau serice în chimia clinică uzează de diverse metode analitice. O succintă trecere în revistă a acestora se face în cele ce urmează.

A. Lipidele totale. Se pot determina prin metode analitice chimice (e.g. gravimetrie) și fizico-chimice (e.g. spectrofotometrie, turbidimetrie ș.a.). Există și posibilitatea de a stabili cantumul lipidelor totale prin însumarea concentrațiilor fracțiunilor lipidice: triacilgliceride, colesterol, fosfolipide, AGL etc. În mod curent în laboratoarele clinice se efectuează determinări asupra lipidelor totale, colesterolului și triacilgliceridelor. Excepție fac laboratoarele clinice universitare în care compartimentul de chimie clinică este mai dezvoltat, acoperind adesea și o arie tematică necesară cercetării științifice.

B. Triacilgliceride. Determinarea triacilgliceridelor suscită interes crescut datorită faptului că s-a demonstrat rolul acestora ca factor de risc în bolile cardiovasculare. De asemenea, determinarea concentrației TAG permite diagnosticarea anomaliilor genetice sau dobândite ale metabolismului lipidic. Sub raport analitic se uzitează de metode fizico-chimice: cromatografice, spectrofotometrice (uneori bazate pe tehnici enzimatiche). În general, în dozarea triacilgliceridelor (plasmatice sau serice) este important solventul de extracție și compusul utilizat pentru reacția de saponificare, având în vedere că se determină, de fapt, glicerolul sau grupările esterice din TAG. Din aceste considerente, în funcție de metodă, există mici diferențe între valorile normale (fiziologice) ale TAG.

Acizii grași liberi. Cantumul acestor compuși dă o imagine generală asupra “forme circulate”, care se poate esterifica sau poate participa ca atare, la alte interacții metabolice. Determinarea se poate face prin metode chimice (titrimetrie) și fizico-chimice (spectrofotometrice sau colorimetrice). Determinările fizico-chimice se bazează pe reacții de saponificare cu compuși ai cobaltului sau cuprului.

Glicerolul seric. Se determină în cazuri mai rare, adesea cu scopul de a evidenția anumite anomalii metabolice genetice sau dobândite care afectează statusul triacilgliceridelor.

C. Colesterolul. Sub raport biomedical determinarea colesterolului, reprezintă o analiză de uz curent în laboratorul clinic, importantă pentru diagnostic în clinica medicală.

Metodologia se bazează pe diverse procedee instrumentale fizico-chimice, e.g.: spectrofotometria, fluorimetria, cromatografia, turbidimetria ș.a. Există numeroase metode analitice citate în literatura de specialitate. Cu titlu informativ se menționează că majoritatea metodelor se bazează pe reacția de culoare Liebermann-Burchard pentru colesterol. Metodele analitice utilizate urmăresc determinarea colesterolului total și colesterolului liber (neesterificat).

D. Glicerofosfolipide. Dozarea compușilor plasmatici din această grupă este importantă având în vedere contribuția acestora la nivelul global al lipidelor și rolul fiziologic (marcat de prezența grupării fosfat). În cazuri speciale se urmărește determinarea pentru colaminfosfolipide (cefaline), colinfosfolipide (lecitine), serinfosfolipide (fosfatidil serine), inozitolfosfolipide. Determinarea analitică a acestora se face, ca și pentru alte fracțiuni lipidice, prin metode fizico-chimice, îndeosebi prin spectrofotometrie.

E. Sfingolipidele. De asemenea, se determină în cazul unor studii care urmăresc fie sfingolipidele (în general), fie derivații acestora în raport cu activitatea fiziologică care este pusă în legătură cu sistemul nervos central și/sau periferic, cu coordonarea nervoasă a proceselor metabolice etc. În acest sens se urmăresc, în cercetări de biochimie, și fiziologie, două subclase de singolipide și anume: sfingofosfolipidele (exemplu sfingomielina – substanța albă din țesutul nervos) și sfingozidolipidele (reprezentate, prioritar, prin cerebrozide și gangliozide) – v. Kanfer și Hakomori, 1983; Vance și Vance, 2002.

Cu referire la determinarea lipidelor și fracțiunilor lipidice din plasmă și/sau ser se face remarcă faptului că există o diversitate de metode analitice uzitate în chimia clinică. De asemenea, există metode adaptate unor “Teste-standard”, cu truse special dotate cu reactivi și substanțe etalon produse de diverse firme de specialitate, cu mar fi, spre exempli: Boehringer, Ciba, Ames ș.a. În fine, se impune menționarea faptului că valorile analitice pot fi distorsionate de consumul excesiv al unor alimente (chiar dacă se respectă condițiile recoltării antepandiale a sângelui – a jeun), precum și de diverse medicamente utilizate în tratament în perioada premergătoare investigațiilor de laborator.

Problema diversității metodologice în chimia clinică a coroborării datelor cu explorările paraclinice, precum și a variațiilor patologice este prezentată în tratate de specialitate (Franke et al., 1977; Kaplan și Pesce, 1984 ș.a.).

Perturbările cuantumului metaboliților lipidici (plasmatici și/sau serici), sunt însoțite și de modificări ale agregatelor moleculare de tipul lipide-protide, ceea ce implică concomitent și o creștere a nivelului lipoproteinelor.

Investigarea lipoproteinelor reprezintă însă o altă problemă de interes major pentru chimia clinică, conexă cu aceea a lipidelor și fracțiunilor lipidice menționate.

2.2.2. INVESTIGAȚII DE LABORATOR PENTRU LIPOPROTEINE

Problema investigațiilor întreprinse asupra lipoproteinelor (LP), așa cum s-a arătat, se asociază acelor privitoare la lipide și fracțiunile lipidice sanguine (plasmatică și/sau serice).

2.2.2.1. Separarea electroforetică a lipoproteinelor serice

Problema separării lipoproteinelor (lipoproteidelor) implică reiterarea unor aspecte de constituție. Caracteristicile generale ale lipoproteinelor au fost decelate prin ultracentrifugare și electroforeză. Prin anafereză – migrarea electroforetică de la catod spre anod, se remarcă mobilitatea componentelor lipidice cu dispunere în diverse fracțiuni electroforetice (fig.2-1).

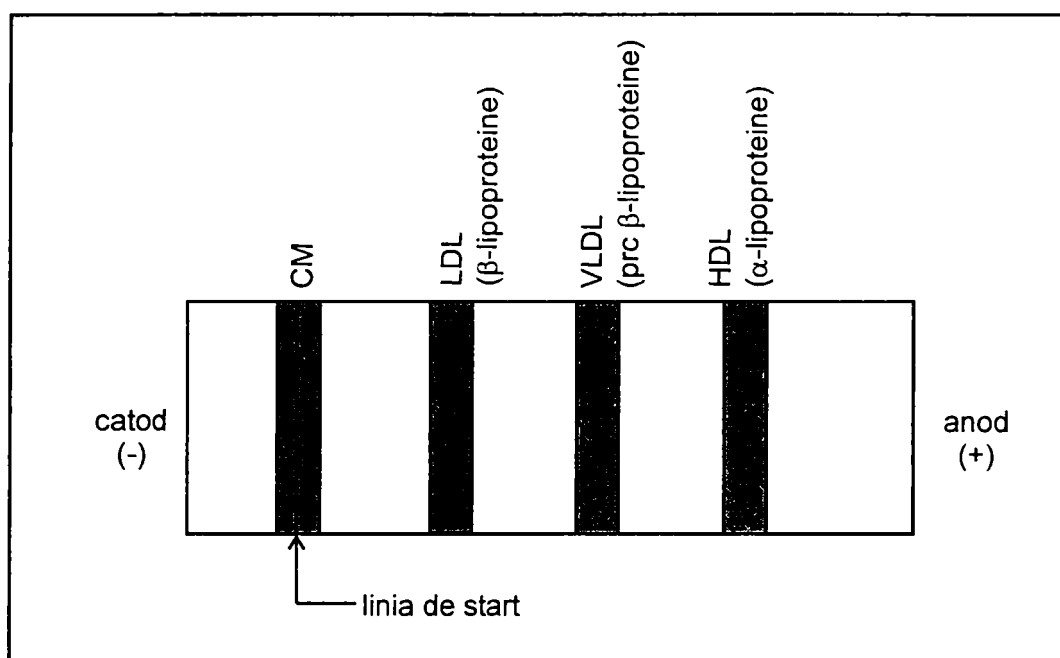


Fig.2-1. Electroforegrama migrației serumlipoproteinelor

În acest context se reamintește faptul că lipoproteinele serice sunt substanțe cu compoziție mixtă în constituția cărora se află componente proteice specifice numite – apoproteine (Apo-X) și componentele lipidice. În uzanța curentă există și matrice de apolipoproteine (Apo-LP). Componenta proteică poate să aparțină unor tipuri diferite sub raportul compoziției și structurii, e.g. tipurile A, B, C, E etc. (notate Apo-A, Apo-B, etc.). care au status relativ constant în cursul biosintezei și biodegradării. Componenta lipidică se integrează constituind, în ansamblu lipoproteină.

Datele electroforegamei atestă existența unei relații de directă proporționalitate între masa moleculară a diverselor clase de lipoproteine sanguine serice și mobilitatea electroforetică a acestora. Această mobilitate cvasi nulă la chilomicroni CM, crește progresiv de la lipoproteine cu densitate scăzută – LDL fracțiunea β-lipoproteinică la

lipoproteine cu densitate foarte scăzută-VLDL fracțiunea pre β -lipoproteinică și atinge maxima la lipoproteine cu densitate crescută-HDL evidențiate în fracțiunea α -lipoproteinică

Investigațiile de laborator apelează îndeosebi la metoda electroforezei de zonă (pe hârtie, celuloză sau gel de agaroză). Lipoproteinele migrează în câmp electric de la catod spre anod (anafereză). Astfel, de la linia de start se separă fracțiunile β -, pre β - și α -lipoproteine.

2.2.2.2. Statusul serumlipoproteinelor

Problema diferențelor de compoziție ale lipoproteinelor (LP) serice și plasmatice – în cazul unui metabolism normal – evidențiază diferențe notabile de la o clasă de particule la alta (fig. 2-2).

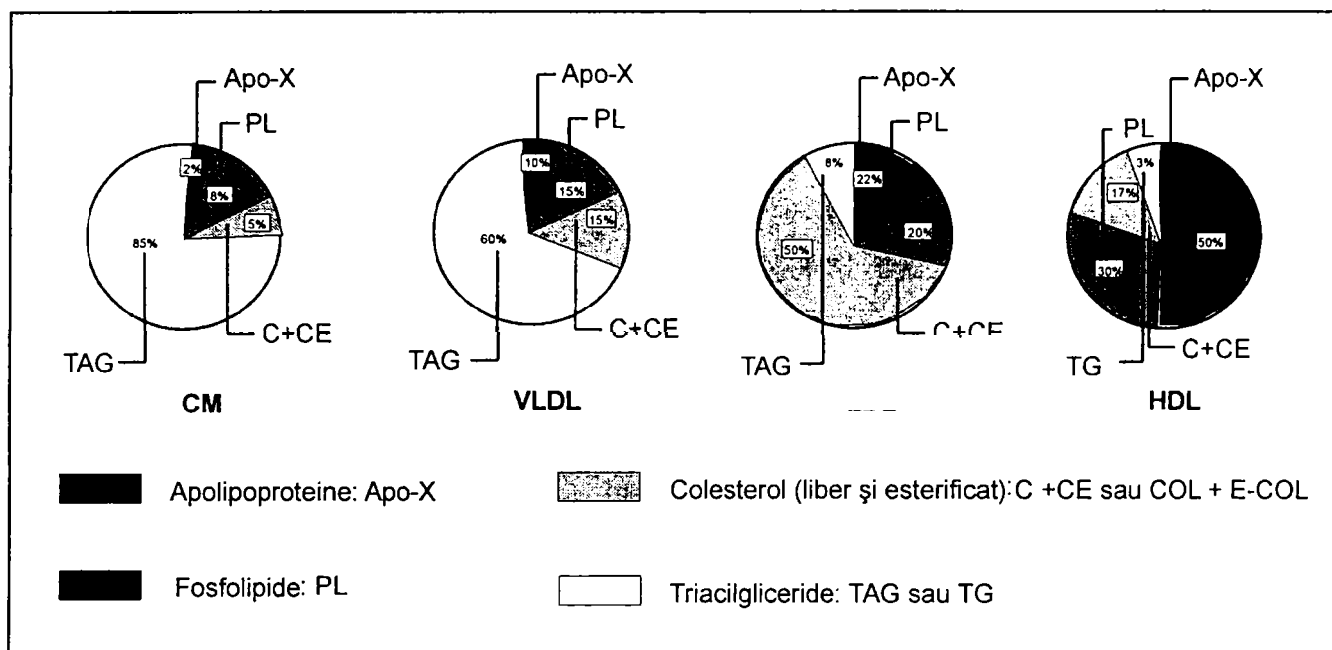


Fig.2-2. Compoziția diverselor clase de particule lipoproteice

În general, lipoproteinele sunt compuse din lipide neutre, în speță triacilgliceride (notate prin TAG sau TG) înconjurate de un înveliș de apoproteine (Apo-X), fosfolipide (LP), colesterol neesterificat (notat C sau COL) sau colesterol esterificat (notat CE sau E-COL). Principalele lipide transportate de particulele de lipoproteine sunt triacilgliceridele și colesterolul de proveniență exogenă (din dietă) și prin sinteza de novo.

În acest context se discută succint fiecare clasă de particule, precizându-se relația, structura, activitatea.

Chilomicronii (CM) se formează în celulele mucoasei intestinale și transportă triacilgliceride (TAG) și colesterol esterificat (E-COL) provenite din dietă (origine exogenă) și lipidele rezultate din procesele metabolice celulare (origine endogenă). Transportul se realizează

spre țesuturile periferice. La nivelul mucoasei intestinale s-a constatat că apar așa numiții chilomicroni în „status nascendi”, care conțin apoproteina B (Apo-B). În plasmă se mai rețin apoproteina E (Apo-E), care – alături de Apo-B – permit recunoașterea de către receptorii hepatici. De asemenea, se rețin apoproteine C (Apo-C, în special Apo-C-II) care intervin în activarea enzimei *lipoproteinlipaza*. Sursa de apoproteine este asigurată de HDL. Astfel, se poate afirma că există o categorie de chilomicroni aflată în circulație „status circulatorius” este diferită prin formă și compoziție de forma inițială.

Lipoproteinele cu densitate foarte scăzută (VLDL) se produc în ficat. În conținutul acestora se află predominant triacilgliceridele (TAG), care sunt transportate spre țesuturile periferice. În degenerescența hepatică grasă, așa numita steatoză, care poate avea etiologie diversă (anumite hepatite, diabetul necontrolat, ingestia excesivă de alcool etc.) se produce o inbalanță (un dezechilibru) între biosinteza triacilglicerolilor hepatici și formarea VLDL. Dintre apoproteine, în afară de Apo-A, se mai află Apo-C-II și Apo-E care provin din HDL prin transfer către VLDL asigurat de interșanjabilitatea constituenților.

Lipoproteinele cu densitate scăzută (LDL) – conțin triacilgliceride (TAG), colesterol liber (COL) și colesterol esterificat (E-COL). Rolul fiziologic principal al particulelor de LDL rezidă în transferul colesterolului spre țesuturile periferice. Particulele LDL acționează atât prin depozitarea colesterolului liber pe membranele celulare, cât și prin legarea la receptorii de pe suprafața membranelor celulare care au capacitatea de a recunoaște Apo-B. În acest sens, se poate exemplifica legarea LDL care conțin Apo-B-100 la suprafața celulelor, în care recunoașterea se face de către *clatrine* specifice. După aceasta, se produce internalizarea particulelor printr-un proces de endocitoză.

Lipoproteinele cu densitate ridicată (HDL) sunt particule care se sintetizează în celulele hepatice, de unde, prin exocitoză, trec în curentul sanguin. Sub raport fiziologic, HDL au roluri multiple, e.g.: a) rezervorul de circulație pentru Apo-C-II care sunt transferate către VLDL și CM; b) transportul colesterolului liber din țesuturile extrahepatice și esterificarea acestuia în prezența enzimei *colesterol aciltransferaza* prezentă în plasma sanguină; c) transferul colesterolului esterificat către VLDL și LDL prin interșanjabilitate cu triacilglicerolii etc.

Pentru a avea o imagine mai complexă a tipurilor de lipoproteine, în tabelul 2-2 se prezintă date referitoare la particularitățile fizico-chimice ale LP plasmatică. Datele – compilate din literatura de specialitate – redau detalii referitoare la greutatea moleculară, raportul constituenților, migrarea electroforetică, constanta de flotație în ultracentrifugare ș.a. (Fredrickson et al., 1967; Skipski et al., 1967; Skipski, 1972).

Tabel 2-2. Particularități fizico-chimice ale lipoproteinelor plasmatice

Specificare		CM	VLDL	LDL	HDL
Electroforeză	pe hârtie	staționar	pre β	β	α
	gel de agaroză	α_2	pre β	β	α_1
Ultra-centrifugare	densitate (g/mL)	0,94	0,98-1,006	1,006-1,063	1,063-1,210
	constanta de flotație	400 – 10.000	20-400	0-20	0-3 sediment
Greutatea moleculară		$0,4-30 \cdot 10^9$	$5-10 \cdot 10^6$	$2,2-3,5 \cdot 10^6$	$1,86-3,86 \cdot 10^5$
Diametrul particulelor (Å)		750-6.000	250-750	170-260	40-140
Raport lipide/protide		98/2	92/8	79/21	59/41

Cu titlu informativ, se menționează că și în cazul investigației lipidelor - ca și pentru glucide – se poate utiliza un test de toleranță pentru lipide – LTT (Lipidic Tolerance Test). Datele bazate pe acest test au condus la observații importante privind cuantumul și cinetica reacțiilor de biosinteză/biodegradării a lipidelor serice și plasmatice. Astfel, s-a constatat că preexistența unei hipercolesterolemii, reprezintă un factor de menținere a hiperlipemiei postprandiale. Un alt aspect important sesizat a fost acela că hipertriacilgliceridemia postprandială este mai redusă în cazul administrării de glucoză (Garban, 1999).

În fine, o importantă observație a fost aceea cu privire la faptul că nivelul și compoziția lipidelor plasmatiche exogene – administrate în cadrul LTT – poate permite decelarea anomaliilor existente în metabolismul lipidic. Ulterior, metodologia LTT a fost perfectată în sensul utilizării unor preparate injectabile intravenos (i.v.), e.g.: produsul denumit: “Intralipid”.

Problemele referitoare la bioconstituenții plasmatici sau serici și anomaliile metabolismului lipidic, cu implicații majore în patologie, fac obiectul a numeroase tratate de specialitate în care se abordează probleme de fiziologie, fiziopatologie, patologie biochimică, depășind cadrul acestui tratat. În același cadru se circumscrie și problematica abordată în tratatele referitoare la nutriția umană privind alimentația rațională și alimentația dietetică.

2.3. PARTICULARITĂȚI ALE METABOLISMULUI LIPIDIC ÎN PERIOADA DE ADOLESCENȚĂ

2.3.1. PRIVIRE SINOPTICĂ

Copilăria este perioada vieții caracterizată prin creșterea și diferențierea organismului până la atingerea gradului final al dezvoltării corporale (somatice) și psihice. Include viața de la naștere până la vârsta de 20 de ani. În acest interval, organismul este diferit față de cel al unui adult, atât din punct de vedere morfologic, dar și în raport cu vârsta și gradul de dezvoltare somato-psihică. Astfel, în etapa școlară se încetinește ritmul de creștere și metabolismul, se intensifică procesul de diferențiere, se perfecționează organele și organismul în totalitate. Este considerată o perioadă vulnerabilă a organismului față de condițiile de mediu (alimentație, factori climaterici etc.) care acționează în ambientul existențial.

2.3.2. METABOLISMUL ȘI CRONOBIOLOGIA

În biochimia statică și dinamică au fost decelate modificări de structură și de quantum ale lipidelor și lipoproteinelor în funcție de vârstă. Această variație este extrem de logică dacă raportăm rolul morfogenezei (plastic) și energogenezei (calorigen) al lipidelor la necesitățile organismului, modificate în funcție de etapa evoluției biologice. Se vor prezenta în continuare, unele aspecte legate de cele două perioade extreme: creșterea și senectutea.

În perioada fetală se remarcă creșterea concentrației lipidelor. În tabelul 2-3 se prezintă date (compilate din literatura de specialitate de către Mincu și Hâncu, 1976) privind greutatea fetală și concentrația lipidelor în relație cu vârsta fătului.

Tabel 2-3 . Conținutul în lipide al organismului fetal la diferite vârste

Vârsta fătului (săptămâni)	18	22	28	32	37	40
Greutatea fetală (grame)	250	500	1 000	1 500	2 500	3 500
Lipide (grame)	2	10	40	90	240	450

Din punct de vedere calitativ, lipidele fătului și ale nou-născutului se deosebesc de lipidele copilului și adultului, prin creșterea punctului de topire și al gradului de saturare. Conținutul în acid palmitic este mai mare, în timp ce conținutul în acid stearic și oleic este mai redus.

Placenta poate fi tranzitată de acetat și acizi grași liberi. În cazul colesterolului și fosfolipidelor tranzitul trans placentar este extrem de limitat. Nou-născutul are lipemia și lipoproteinemia mai mici comparativ cu mama. După câteva ore sau zile acestea cresc (vezi tabelul 2-4).

Tabel 2-4. Variația lipidelor serice la nou-născut și la copilul de un an (după Cooke, 1968)

Fracțiuni lipidice	Vârsta	Concentrația mg%
Colesterol total (70 – 75% esterificat)	nou-născut	70 mg/dL
	peste 1 an	180 mg/dL
Fosfolipide	nou-născut	110 mg/dL
	peste 1 an	215 mg/dL
Triacilgliceride	nou-născut	50 mg/dL
	peste 1 an	70 mg/dL
Acizi grași liberi	nou-născut	0,3 mEq/L
	peste 1 an	0,7 Emq/L

În fiziologie, homeostazia biochimică a lipoproteinelor la nou-născut prezintă similitudini cu aceea a copilului de 7-17 ani. Perturbările metabolismului lipidic legate de vârstă sunt dependente de perturbări ale tranzitului intestinal, anomalii ale transportului plasmatic al lipidelor, tulburări ale metabolismului lipidic (predilect al catabolismului). O detaliere referitoare la aceste modificări metabolice relevă:

a) modificări ale absorbției intestinale a grăsimilor neutre prin deficiența lipazei pancreatice.

b) anomalii de transport plasmatic al lipidelor:

- anomalii ale suportului proteic (în cazul lipoproteinelor);
- anomalii ale hidrolizei (lipolizei) plasmatice.

c) scăderea catabolismului lipidic:

- prin metabolismul insuficient al glucozei: producere insuficientă de NADP (prin ciclul hexozomonofosfat) și de alfa-glicerofosfat;
- prin modificări proprii ale țesutului adipos (citologice și de vascularizație);
- prin modificarea factorilor de reglare „hormonală“ (scăderea acțiunii gonadelor și a axei hipofizosuprarenale), a echilibrului enzimatic (lipoproteinlipaza, elastaza, transaminaze) și vitaminic (piridoxina în special).

Consecința acestor perturbări conduce la procese dishomeostazice caracterizate – la nivel de organism – prin: α) creșterea cantității totale de grăsimi a organismului; β) scăderea

metabolismului țesutului gras, demonstrată de: încorporarea ^{14}C -acetatului și ^{11}C -palmitatului; utilizarea O_2 ; γ) scăderea reactivității la acțiunea diferiților hormoni (adrenalină, noradrenalină, hormon somatotrop). Deoarece mobilizarea acizilor grași liberi – precursori ai lipogenezei sau produși ai lipolizei - este un proces cu certe implicații în homeostazia biochimică și homeostazia termică se redau, după Mincu și Hâncu (1976), în tabelul 2-5 principalii factori fiziologici și experimentali în lipoliză.

Tabel 2-5. Factorii fiziologici sau experimentali care afectează lipoliza de la nivelul țesutului adipos (după Mincu și Hâncu, 1976)

Lipoliză crescută		Lipoliză scăzută
<ul style="list-style-type: none"> - Lipotropine - Hormoni hipofizari <ul style="list-style-type: none"> - somatotropina (STH) - adrenocorticotrop (ACTH) - tireostimulent (TSH) - luteinizant (LH) - α-, β-melanocitostimulent (MSH) - vasopresina - Hormoni tiroidieni - Glucagonul - Hormonul lactogen placentar - Adrenalina, - Noradrenalina - Alte catecolamine - Glucocorticoizii 	<ul style="list-style-type: none"> - ciclic AMP, butiril ciclic AMP - unele nucleotide - 2-dezoxi-D-glucoză - metil xantine - ATP, pirofosfat, citrat <p>Stări fiziologice: Foame, dietă hipocarbohidrată, expunere la frig, stress, anxietate, stimulare simpatică</p> <p>Stări patologice Lipoatrofie difuză, boala lipoatrofică, tireotoxicoza, boala Parkinson severă, malnutriție, inanție, catabolism postoperator</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Insulina, factori intestinali „insulin like“ - Prostaglandina E_1 - Fosfodiesteraza - Acizii grași intracelulari, acetoacetat, 3-hidroxi-butirat, ADP, AMP - Denervarea simpatică, agenți antiadrenergici și blocați ganglionari adrenergici, hexametacin, propranolol, pronethalol, guanetidina, reserpina - Acid nicotinic, ouabaina, salicilații <p>Stări fiziologice Alimentație hipercalorică, hipercarbohidrată sau hiperglucidică, sedentarism</p> <p>Stări patologice Adrenalectomie, boli hipofizare, lipomatoză, unele lipodistrofii</p>

Dishomeostazia metabolismului lipidic se caracterizează, în principal, prin:

1. hiperchilomicronemie;
2. creșterea nivelului majorității fracțiunilor lipidice și lipoproteice

3. alterarea curbei dinamice de încărcare lipidică în cazul evaluării testului de toleranță pentru lipide.

Cauzele acestor variații sunt greu explicabile în totalitate. Oricum se impune corelarea cu fiziopatologia arterială, care favorizează ateroscleroza.

Integrarea metabolismului lipidic și lipoproteinic în homeostazia energetică, importantă pentru organismul uman, este decisă de jocul dintre procesele de energogeneză care însoțesc metabolismele materiale și necesitățile energetice.

Formarea rezervelor energetice, bazate pe specificul interactiv al metabolismelor materiale la care concură triacilgliceridele, glicogenul și proteinele, are loc în urma aportului alimentar, în cursul fazei anabolice a funcției generale metabolice. Căile prin care se realizează sunt: nervoase (sistem nervos parasimpatic) și hormonale (insulina). Fenomenul apare în cadrul hiperaportului alimentar, sedentarismului și hipertermiei exogene (ambientale).

Mobilizarea rezervelor energetice (prin termogeneză și termoliză) are loc în cadrul fazei catabolice a metabolismului, cu concursul sistemului nervos simpatic și al hormonilor. Suprasolicitarea energetică este consecința carenței alimentare, frigului, efortului fizic crescut, sarcinei, climaxului și al hipermetabolismului general.

2.4. ROLUL INVESTIGAȚIILOR BIOCHIMICE ÎN PREVENIREA DISLIPIDEMIILOR

2.4.1. PRIVIRE SINOPTICĂ

Problema implicațiilor biomedicale ale dishomeostaziei bioconstituenților lipidici și lipoproteinici din celule și lichidele biologice necesită cunoașterea aspectelor legate de catabolismul și anabolismul lipidelor și lipoproteinelor. Doar în acest mod se pot înțelege și corela cu aspectele de fiziologie și fiziopatologie bazate pe procese de lipoliză și lipogeneză și implicațiile patologice (Gregoire, 1971; Teodorescu-Exarcu, 1974; Feuer și Iglesiu, 1985; Bachman et al., 1993; Labarthe, 1999; Christie, 2003).

Fără a intra în detalii, se menționează faptul că în patologia biochimică și medicina internă se discută în mod curent existența unei hiperlipoproteinemii primare în care fenotipul de lipoproteine (I, IIa, IIb, III, IV, V) diferă mult, atât prin natura constituenților lipidici cât și a celor lipoproteinici. Remarcabil este faptul că fenotipul de lipoproteine este însoțit de un “tablou sinoptic” al modificărilor morfofuncționale care interesează întregul organism.

Hiperlipoproteinemia primară, spre exemplu, se corelează cu procese de ateroscleroză a vaselor coronare și periferice, apariția de xantelasme (depozite de colesterol în jurul ochilor), de xantoame (depozite de colesterol în piele și tendoane), acumulare de sfingolipide, îndeosebi la nivelul sistemului nervos central, formarea calculilor biliari ș.a.

La lipide și fracțiuni lipidice - deci la: colesterol (uzual COL sau simplu C), acizi grași liberi (AGL), triacilgliceridele (TAG) sau trigliceride (TG), precum și la lipoproteine - deci la: chilomicroni (CM), VLDL, LDL, HDL, problema homeostaziei biochimice și a perturbărilor acesteia se discută în raport cu existența unui determinism ereditar, dar și în raport cu factori ambientali (nutriționali, socio-profesionali etc.).

În chimia clinică se utilizează diverse moduri de evaluare a homeostaziei lipidelor, e.g.: lipide totale și fracțiuni lipidice (triacilgliceride, colesterol, acizi grași liberi și esterificați, fosfolipide). De asemenea, se poate utiliza evaluarea lipoproteinelor prin fracțiunile specifice: CM, VLDL, LDL, HDL, precum și prin determinarea componentelor proteice din lipoproteine, deci a apolipoproteinelor (Apo-LP). În cazul Apo-LP se pot estima și tipurile existente, de exemplu: Apo A, Apo B etc.

Evident se impune sublinierea faptului că modul de evaluare a lipidelor și/sau lipoproteinelor este dependent de performanțele laboratorului, recte a mijloacelor instrumentale – aparatura pentru determinări analitice fizico-chimice (fără a exclude rolul operatorului analist).

Se menționează că în prezent, în numeroase laboratoare clinice, evaluarea primară a datelor privind subiecții investigați prin mijloacele chimiei clinice se face prin determinarea TAG și a HDL-COL. Pentru a avea o imagine asupra acestora, în tabelul 2-6 se prezintă valorile normale în raport cu vârsta și sexul subiecților. Evident pentru o explorare mai complexă a lipidelor și lipoproteinelor seria investigațiilor de profil se extinde.

Tabel 2-6. Valorile triacilgliceridelor și HDL-colesterolului în relație cu vârsta și sexul

Vârsta (ani)	Bărbați		Femei	
	Triacilgliceride	HDL colesterol	Triacilgliceride	HDL colesterol
0-19	30-100	30-70	35-105	35-70
20-29	46-165	35-65	40-115	35-80
30-39	50-235	30-65	40-160	35-80
40-49	55-250	30-65	45-180	35-85
peste 50	60-220	30-65	55-95	35-90

Studiul etiopatogeniei dislipidemiilor și dislipoproteinemiilor, deși extrem de importantă, se constituie într-un domeniu al fiziopatologiei și se adresează predilect aparatului cardiovascular și sistemului nervos central. Datele referitoare la problema homeostaziei se vor limita la aspectele aflate în corelație cu patologia biochimică.

Privitor la lipidele și lipoproteinele sanguine – explorate frecvent în laboratorul de chimie clinică – se fac mențiuni asupra principalelor fracțiuni lipidice: TAG și COL. Dintre lipoproteine se studiază: CM, VLDL, LDL, HDL.

Problema dishomeostaziei lipidelor și lipoproteinelor prezintă un interes aparte și a stat la originea definirii particularităților de compoziție și quantum menționate în tratatele de specialitate cu denumirile generale de “hiperlipidemii” și respectiv “hipolipidemii”.

2.4.2. Caracteristici ale dishomeostaziei biochimice în hiperlipidemii

Hiperlipidemiile sunt tulburări ale ratei biosintezei sau biodegradării compușilor lipidici și lipoproteinici prezenți în sânge. În evaluarea unui anumit fenotip de hiperlipidemie se ia în considerare quantumul diverselor fracțiuni.

În caracterizarea hiperlipidemiilor s-a apelat la definirea tipurilor de lipidemii după criteriile elaborate de Fredrickson et al. (1967). Studiul acestor tipuri a fost dezvoltat, ulterior, prin prodigioase investigații în biochimie, chimia clinică, patologia biochimică, medicina internă, epidemiologie etc.

În funcție de modul de distribuire electroforetică a lipoproteinelor ca și de modificările homeostazice, respectiv creșterea concentrației (menționată prin semnul ↑) diferitelor fracțiuni lipidice (e.g. TAG, COL) sau lipoproteinice (e.g. CM, VLDL, LDL) se disting cinci tipuri de lipoproteinemii (notate I-V). O prezentare schematică generală a acestora, după Kaplan și Pesce (1984), Rawn (1991) și Griffin (1999), modificat se redă în fig.2-3.

Electroforeza, în mediu de agaroză, spre exemplu, asigură o rezoluție bună pentru β - și β -lipoproteine, cu un înalt nivel de sensibilitate metodologică. Relevarea LP se face prin colorare cu substanțe liposolubile care fac posibilă evidențierea și evaluarea calitativă și cantitativă a acestor compuși.

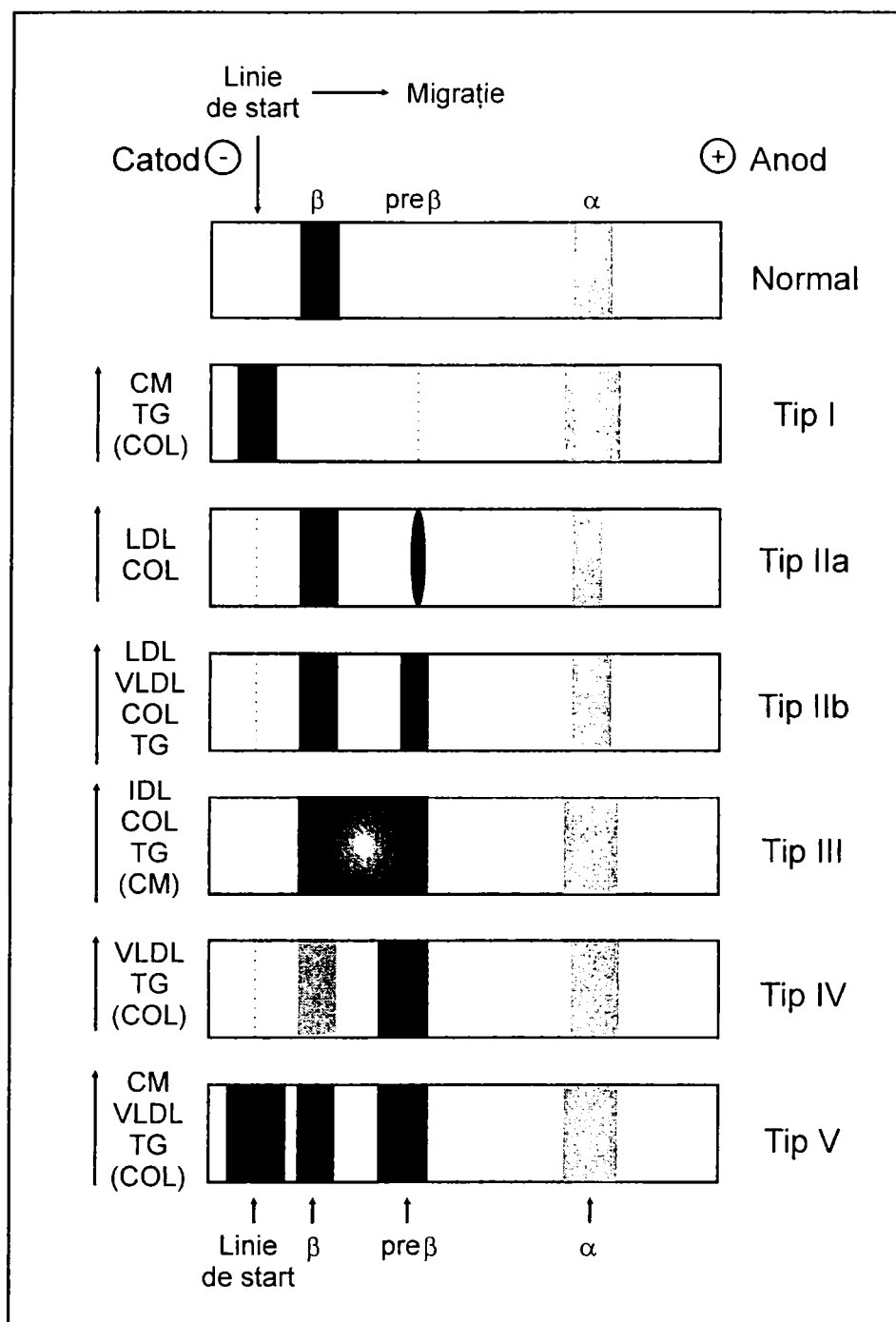


Fig.2-3. Prezentarea tipurilor de lipoproteinemii (I-V)

Apariția hiperlipoproteinemiilor este estimată ca o perturbare a metabolismului lipidic general. Din acest motiv în identificarea tipului de hiperlipoproteinemie, se are în vedere, de asemenea, nivelul hiperlipidemiei (în mod expres nivelul colesterolului și triacilgliceridelor).

Tipul I de hiperlipidemie - este caracterizat prin creșterea cantității CM, a TAG (peste valorile de 100 mg/dL) și în măsură mai redusă a COL. Creșterea TAG este adesea asociată cu apariția de xantoame eruptive (depozite subcutanate de TAG) și cu pancreatită. Determinismul ereditar relevă două defecte genetice distincte: a) deficiența lipazei

lipoproteinice; b) deficiența apolipoproteinei (Apo- LP) de tip Apo CII care este necesară pentru a asigura activitatea lipazei lipoproteinice.

Tipul II de hiperlipidemie – este cauzat, în principal, de creșterea LDL și a COL. La originea acestui fenotip de hiperlipidemie se află disfuncțiuni genetice care afectează metabolismul lipidic și activitatea receptorilor LDL. La tipul II se disting, in facto, două subtipuri notate prin IIa și IIb. În literatura de specialitate se întâlnesc sub denumirile de tip IIa și tip IIb diferențiate predilect prin fracțiunile lipidice și lipoproteinice dominante:

a) *Tipul de lipoproteinemie IIa* – caracterizat prin valori mari ale LDL și COL

b) *Tipul de lipoproteinemie IIb* – la care s-au observat creșteri importante ale LDL, VLDL, COL, TAG

Studii de patobiochimie și genetică umană au relevat următoarele aspecte: 1) heterozigoții au LDL crescut ca și o trăsătură dominantă; 2) homozigoții au niveluri de LDL foarte ridicate – situație care poate conduce la infarct miocardic la vârste tinere (chiar sub 20 de ani).

Tipul III de hiperlipidemie – se definește prin creșterea IDL, COL, TAG, și (în măsură mai redusă) a CM. În cazul acestui tip, sub raport genetic, s-a constatat existența unei anomalii a apolipoproteinelor de tip Apo E care sunt implicate în preluarea și vehicularea CM și a resturilor de VLDL prezente în circulația sanguină. Acest tip de hiperlipidemie predispune la un risc crescut de ateroscleroză. Studii de endocrinologie, întreprinse în general după anii '80, atestă faptul că hipotiroidismul induce o hiperlipidemie asemănătoare tipului III, descris mai sus.

Tipul IV de hiperlipidemie – se remarcă prin valori crescute ale VLDL, TAG și a COL. Acest tip de hiperlipidemie are frecvență crescută consemnată în cercetările de patobiochimie cu caracter populațional. În numeroase studii creșterea VLDL a fost asociată unor boli dobândite (obezitate, diabet) sau abuzului de alcool. Nu există o elucidare a aspectelor moleculare și mai ales a unor particularități genetice. S-au remarcat însă forme familiare.

Tipul V de hiperlipidemie - este asociată creșterii CM, VLDL, TAG și COL. Prezintă similitudini, sub raport dishomeostazic, cu tipul I (v.fig.2-1). Evident modificările patobiochimice sunt secondate și de aspecte clinice similare: apariția xantoamelor cu caracter eruptiv și pancreatitei.

2.4.3. Caracteristici ale dishomeostaziei biochimice în hipolipidemii

Hipolipidemiile mai puțin frecvente și, de fapt mai puțin studiate au un determinism ereditar. Au fost studiate îndeosebi modificările lipoproteinelor sanguine. Și în acest caz se pot distinge mai multe tipuri – acestea însă nu beneficiază de o clasificare riguroasă.

Tipul α - β -lipoproteinemia – sub raport biochimic este caracterizată prin absența CM, VLDL și LDL cauzate de absența unei apolipoproteine de tip B, numită Apo B-100 a cărei biosinteză nu este posibilă. Boala se transmite autosomal recesiv și este întâlnită doar la homozigoți. Se manifestă prin: afecțiuni digestive – malabsorbția lipidelor; hematologice – hematoacantocitoză (hematii cu aspect spinos); neurologice – tulburări de pigmentare ale retinei, ataxie etc.

Tipul de hipo- β -lipoproteinemie. Are caracterul unei afecțiuni ereditare care se transmite autosomal dominant. Dishomeostazia biochimică este prezentă atât la homozigoți cât și la heterozigoți. La homozigoți s-a remarcat absența CM, VLDL și LDL din plasma sanguină, iar la heterozigoți se reduce concentrația VLDL și LDL plasmatic. Variația modificărilor homeostazice atrage după sine variații ale manifestărilor clinico-biologice. Sunt afectate în mare măsură membranele plasmatică de concentrația redusă, dar mai ales de absența LDL. Astfel, celulele care au conținut ridicat de lipide membranare (e.g. celule nervoase, celule retiniene, eritorcite) prezintă acantocitoză – o modificare a membranei celulare care sugerează aspectul “de spini” (gr. achantos).

În funcție de tipul de celule afectat se vor observa tulburări neuromusculare, spre exemplu: areflexie osteotendinoasă, ataxie locomotorie, hipotonie musculară etc.; tulburări vizuale, spre exemplu: scăderea acuității vizuale, scotoame, nistagmus etc.; tulburări hematologice, spre exemplu: anemie hemolitică datorită anomaliilor morfologice și funcționale ale hematiilor, fragilitatea acantocitelor la agenți fizici (mecanici, termici) și la agenți chimici (unele enzime, ceea ce facilitează hemoliza).

Tipul de hipo- α -lipoproteinemie. Are, de asemenea, un determinism genetic, transmițându-se autosomal recesiv. În cazul acesteia s-a constatat o depresie a HDL, care ajunge la 1-5 % din valoarea normală, observându-se totodată scăderea colesterolului și a fosfolipidelor plasmatică. Sub raport clinic s-a constatat acumularea colesterolului în sistemul limfatic și reticulo-endotelial. Clinic s-a constatat producerea frecventă a hepato- și splenomegaliei.

Tipul de hipo- α - și hipo-pre β -lipoproteinemie. Este o afecțiune genetică de tipul enzimopatiilor. Analitic, la electroforeză, s-a constatat reducerea benzilor de α -lipoproteine și pre β -lipoproteine în creșterea benzii de β -lipoproteine. Sub aspect enzimatic afecțiunea este considerată ca o deficiență de lecitin-colesterol-aciltransferază (notată uneori LCAT).

Modificările din electroforegramă caracterizată prin depresia unor benzi și extinderea alteia (i.e. β -lipoproteinele) sunt denumite în unele lucrări de specialitate ca “producerea de lipoproteine X”. Se pare că deficiența enzimatică se corelează cu absența unei apolipoproteine de tip A, numită Apo-A, care este considerată activator la LCAT.

În studiul dislipidemiilor s-au evaluat și cauzele care conduc la hiperlipoproteinemiile secundare. Astfel, s-a evidențiat existența unei anumite legături între fenotipurile de hiperlipoproteinemie (I-V) care apar manifest în anumite boli. Spre exemplu, diabetul conduce la fenotipul de hiperlipoproteinemie IV; disglobulinemia la fenotipul I, utilizarea contraceptivelor orale la fenotipul IV etc.

Evident, perturbarea proceselor metabolice determină gravitatea afecțiunilor, iar asocierea cu alte afecțiuni poate conduce la efecte conjugate. Spre exemplu, în cazul hiperlipidemiilor, hipotirodismul conduce la fenotipul de hiperlipoproteinemie II sau III, alcoolismul la fenotipul de hiperlipoproteinemie IV sau V etc. Datele expuse relevă complexitatea proceselor care guvernează patologia biochimică.

2.5. PARTICULARITĂȚI ALE ALIMENTAȚIEI ÎN PERIOADA DE ADOLESCENȚĂ

2.5.1. ALIMENTAȚIA COPILULUI ȘCOLAR

Necesarul energetic al copilului școlar este de 60 – 70 cal/kgcorp/zi. Intervalul de vârstă pentru copilul școlar nu este stabilit conform unor convenții internaționale (general acceptate). În literatura de specialitate acest interval este menționat a fi 6-10 ani sau 6-12 ani. În general se consideră că necesarul cotidian este de cca 2200 calorii pe zi între 7 – 9 ani și 2500 calorii pe zi între 10 – 12 ani. Din aportul caloric total, pornind de la macronutrienți se consideră că 13% se vor da sub formă de proteine, 32% lipide și 55% glucide.

Proteinele cu valoare biologică mare vor reprezenta 58 – 60%, restul putând fi acoperit pe seama proteinelor vegetale. Dintre alimentele care furnizează proteinele din prima categorie fac parte : carnea și derivatele cca 100 - 130 g pe zi, laptele cca 500 ml pe zi, brânzeturile cca 25 – 30 g pe zi ouăle cel puțin 25 – 30 g pe zi sau unul pe zi. Lipidele se vor acoperi pe de o parte, pe seama grăsimilor de constituție și pe de altă parte din grăsimile alimentare; rația de grăsimi animale (unt, smântână, frișcă) va fi de 25 – 30 g pe zi, iar cea de grăsimi vegetale de 25 – 30 g pe zi. Necesarul de glucide va fi acoperit din pâine, ce se va da în cantitate de 200 – 250 g pe zi, făinoase 45 – 50 g pe zi, legume care se vor da sub formă de

cartofi 180 – 200 g pe zi, rădăcinoase 200 g pe zi, legume verzi 250 – 300 g pe zi și leguminoase 7 – 10 g pe zi; fructe 250 – 300 g pe zi. Este preferabil a combina legumele și fructele crude. Rația de glucide se va completa cu zahăr și produse zaharoase în cantitate de 50 – 55 g pe zi. Se vor asigura cca 5 mese pe zi cu următoarea repartiție a calorilor: dimineața 20%, la prânz 35 – 40%, eara 20%, iar la gustări câte 10 – 15%.

2.5.2. ALIMENTAȚIA ADOLESCENTULUI

Adolescența este perioada de trecere de la copilărie la starea de adult. Fără a avea limite exacte (stabilite prin reguli ale unor organizații de specialitate, afiliate OMS), adolescența include intervalul dintre 10 și 19 ani. Atât pentru băieți cât și pentru fete se procedează la o divizare în două perioade: una cuprinsă între 10 – 15 ani, care coincide cu perioada de prepubertate și pubertate, iar alta cuprinsă între 16 – 19 ani perioada postpubertară. În cursul acestei perioade individul trece prin profunde transformări: el se dezvoltă fizic, neuroendocrin și intelectual cu repeziciune, toate funcțiile sale vitale se intensifică. În organism are loc o adevărată furtună metabolică și endocrină. Nevoile energetice sunt de 2900 calorii pe zi la băieții între 13 – 15 ani și de 3100 calorii pe zi la cei între 16 – 19 ani; la fete se consideră a fi de cca 2500 calorii pe zi între 13 – 19 ani. Raportat la kg/corp greutate ideală, aceste nevoi reprezintă cca 55 – 60 cal/kgc/zi la băieți și 50 – 55 cal/kgc/zi la fete. Proteinele vor acoperi 13% din valoarea calorică a rației zilnice. Din cantitatea totală de proteine, cel puțin 56 – 60% vor avea valoare biologică mare, deci vor fi de origine animală. Este foarte important să se respecte întocmai necesarul de proteine cu valoare biologică mare, pentru că adolescența este perioada când se desăvârșește dezvoltarea staturoponderală, deci organismul are nevoi plastice mai accentuate. Grăsimile vor acoperi cca 31 – 32% din valoarea calorică globală. Din cantitatea totală, cca 60% vor fi de origine animală. Glucidele vor acoperi cca 55 – 56% din valoarea calorică a rației zilnice. Acestea se vor da mai ales sub forma produselor cerealiere, a legumelor și fructelor și mai puțin a dulciurilor concentrate. De multe ori problema alimentației adolescenților nu este privită în familie cu atenția cuvenită. Aceștia sunt tratați ca și adulții, sau sunt lăsați independenți, să mănânce cum vor și ce vor.

Alimentația trebuie să fie bogată, foarte variată, diferită de cea a adulților. Proteinele vor proveni în mare parte din carne, pește și derivate în cantitate de cca 180 – 200 g pe zi, lapte cca 400 mL pe zi, brânzeturi cca 30 – 40 g pe zi. Restul cantității de proteine se va acoperi din alimentele de origine vegetală. Necesarul de lipide va fi acoperit pe seama

grăsimilor de constituție și, în completare, din grăsimile alimentare, unt sau alte grăsimi animale 25 – 30 g și ulei 35 – 45 g.. Glucidele vor fi furnizate prin consumul de pâine 280 – 350 g, făinoase 45 – 50 g, de asemenea, prin consumul de legume și fructe, și anume: cartofi 200 – 250 g, rădăcinoase (morcovi, țelină, albitură) – 200 – 250 g, legume verzi 250 – 400 g și leguminoase uscate 12 – 15 g zi. Fructele se vor da în cantitate de 300 – 350 g pe zi. În completarea aportului de glucide se vor folosi zahărul și dulciurile concentrate în cantitate de 55 – 70 g pe zi. Alimentația trebuie să fie suficientă caloric și din punct de vedere al factorilor nutritivi cât mai variată, bogată în carne, legume, fructe, lactate și în același timp concordantă cu nevoile ce decurg din felul activității depuse. Nu se va face exces de făinoase, grăsimi gătite, mezeluri sau conserve. Se interzic cafeaua, tutunul, acoolul, condimentele iuți. În perioadele cu activitate intelectuală intensă (examene, lucrări scrise la școală) se va avea în vedere nu numai aportul de proteine cu valoare biologică ridicată, ci și aportul unor elemente minerale ca fosfor, iod, cu rol important în funcțiile sistemului nervos. Nu se va neglija masa de dimineață: micul dejun trebuie să fie destul de consistent, având în vedere că în cursul dimineții solicitarea fizică și psihică sunt maxime.

2.6. DEZECHILIBRE ALE HOMEOSTAZIEI BIOCHIMICE PRIN HIPERCONSUM DE ALIMENTE

Procesul de industrializare, anumite conjuncturi economice, politice sau geografice au determinat apariția unor regiuni pe suprafața globului unde există mari disponibilități în bunuri de consum, între care produsele alimentare procesate ocupă un loc important. Această ipostază s-a dovedit a fi cel puțin la fel de dăunătoare ca și prima prin implicațiile ei biologice, ca orice abatere de la starea de echilibru la care ființa vie a ajuns prin evoluția sa (Mincu, 1993).

Dacă excedentul sau abuzul de varii produse de consum; în general; constituie o risipă ale cărei consecințe se profilează mai ales în perspectivă. Restrândând observația la consumul excesiv de alimente acestea interesează direct economia organismului și are efecte imediate. Efectele se datorează, în special, excesului de calorii, care depășește nevoile organismului, alimentației dezechilibrate bazată pe consum excesiv de anumite tipuri de alimente sau de produse sărăcite prin procesare industrială, deprinderi culinare și obiceiuri alimentare (Guthrie, 1975; Mei et al., 1998; Nemet et al., 2003) și expunerii la efectul unor nocivități apărute în alimentele contaminate cu xenobiotice (Garban, 2005b).

2.6.1. EXCESUL DE MACRONUTRIENȚI LIPIDICI

Consumul de lipide variază foarte mult, în funcție de zona geografică, de starea social-economică a populației, de deprinderile alimentare (Klesges et al., 1991; Mensink și Katan, 1992). Acest consum este determinat și de natura economiei, cunoscută fiind producția masivă a grăsimilor de origine animală (pește, carne), precum și alimentația hiperlipidică a populației situate în zonele reci ale continentelor. Consumul de lipide se ridică, în aceste zone, până la 35 – 45% din valoarea calorică a rației alimentare, fără însă să antreneze consecințele excesului la alte latitudini. Explicația constă în acțiunea pseudolipotropă a frigului și adaptarea la condițiile mediului. Cercetări epidemiologice au arătat că incidența hipercolesterolemiei și hiperlipidemiei este foarte scăzută în zona arctică, unde consumul de lipide este deosebit de mare, iar grăsimile sunt bogate în acizi grași saturați. Mai mult, ridicarea nivelului caloric al rației alimentare prin intermediul grăsimilor mărește substanțial rezistența la frig.

În condițiile de climă caldă, consumul de lipide este în general scăzut, mai ales în țările cu economie slab dezvoltată, unde alimentația este predominant vegetală. Obținerea grăsimilor animale, ca și a celor vegetale, presupune un șeptel ridicat și de bună calitate, industrializarea obținerii nutrețurilor și a îngrășării animalelor, culturi de semințe sau plante oleaginoase și o industrie extractivă prelucrătoare.

În țările avansate industrial, unde aceste condiții sunt realizate, s-a observat o creștere din ce în ce mai mare a producției de grăsimi alimentare, concomitent cu creșterea consumului, care ajunge în unele părți la 40 – 45% din valoarea calorică a rației alimentare. Producția grăsimilor (ca și consumul) poate fi predominant vegetală, animală sau mixtă, variind după caracterul economiei și deprinderile de consum ale populației.

Consecințele abuzului de grăsimi sunt la fel de grave ca și cele ale abuzului de produse zaharoase sau ale oricărui dezechilibru alimentar (Trinder, 1969; Ray și Klesges, 1993; Sothorn et al., 1993; Willi et al., 1998; Tershakovec et al., 1999).

Sunt de subliniat trei aspecte mai importante referitor la relația dintre macronutrienții lipidici din alimente și apariția modificărilor homeostazice care conduc la dislipidemii:

- a) *Îmbogățirea rației cu macronutrienți lipidici* care duc la “teaurizarea” acestora și obezitate.

- b) *Dezechilibrarea rației* prin consum excesiv de lipide în dauna glucidelor, cu sau fără asocierea unor condiții de mediu sau fiziologice (hipoxia consecutivă efortului intens, altitudine, sarcină etc.), determină o metabolizare necorespunzătoare, incompletă, cu tendință spre acidoză, care în ultimă instanță micșorează randamentul biologic al proteinelor (folosite pentru tamponare) și capacitatea de efort fizic.
- c) *Dislipidemiile*. Efectul cel mai evident, observat în țările cu consum crescut, constă în creșterea incidenței dislipidemiilor, a aterosclerozei și, consecutiv, a bolilor cardiovasculare. Colesterolemia rămâne sub 200 mg/100 ml atunci când consumul de lipide nu depășește 25 – 30% din valoarea calorică a rației alimentare, dar crește mult când aceasta se ridică la 35% din valoarea calorică a rației. Italienii, spaniolii, japonezii, cu o alimentație hipolipidică în general, au o colesterolemie mai scăzută decât conașionalii lor emigranți în S.U.A. (și care au adoptat alimentația acestei țări, cunoscută hiperlipidică). În aceste cazuri, colesterolemia a fost apropiată de cea a americanilor cu aceeași condiție social-economică (Mincu, 1993).

Prin examinări anatomopatologice, s-a depistat o incidență a aterosclerozei coronariene avansate – la bărbați de 50 – 60 ani – în proporție de 8% în Japonia, unde consumul de lipide nu depășește 8% din valoarea calorică a rației, de 30% la japonezii din Hawaii (consum lipidic 32%) și de 73% la japonezii stabiliți în S.U.A. (consum lipidic peste 40%). Aceste observații demonstrează importanța relației de condiționare între amploarea dezechilibrului și amploarea tulburărilor patologice. S-a observat că reducerea consumului de lipide în perioade de restricție alimentară (războaie etc.) a determinat reducerea considerabilă a ateromatozei și a consecințelor sale. Cercetările epidemiologice permit să se afirme că, la populațiile unde consumul de grăsimi este mai mic decât 20% din valoarea calorică a rației, incidența aterosclerozei și coronaropatiei este scăzută. Când consumul se ridică la 30 – 35%, acestea devin probleme majore și principala cauză de deces, iar la peste 40% (consum) coronaropatia, ateroscleroza, devin o adevărată plagă socială (Mincu, 1993).

Desigur însă nivelul dislipidemiilor depinde nu numai de aportul global de grăsimi, ci și de condițiile activității fizice (este crescut la sedentari) și mai ales de natura grăsimilor alimentare. Creșterea proporției de acizi grași nesaturați și polinesaturați față de acizii grași saturați reduce considerabil capacitatea aterogenă a excesului lipidic.

Concluzia generală ce se desprinde din cele arătate mai sus reliefează faptul că abuzul de alimente, ca orice abuz, expune la riscuri importante, comparabile cu efectele unei malnutriții. Ele demonstrează, în ansamblu, importanța echilibrului nutritiv ca factor ecologic și necesitatea ca acesta să fie luat în considerare cu toată atenția.

2.6.2. EXCESUL DE MACRONUTRIENȚI GLUCIDICI

Excesul de produse zaharoase se datorează în special efectului psiho-senzorial agreabil al acestora. Pe de altă parte, există, în cazul alimentelor respective, un fel de competiție între producători pentru a le fabrica în forme cât mai atrăgătoare, nu numai din punct de vedere gustativ, ci și acela al formei sau ambalajului, forțând puternic preferința consumatorilor, într-o manieră analoagă produselor alcoolice sau tutunului.

În aceste condiții crește consumul de macronutrienți glucidici chiar în absența foamei sau chiar după apariția senzației de sațietate. Dezavantajele nutritive ale produselor zaharoase, în comparație cu sursele cerealiere de glucide (aflate mai ales sub formă de polizaharide digerabile), constă în caracterul rafinat și concentrație. Ele sunt constituite, în mod esențial, din mono- sau dizaharide în concentrații mari (pentru asigurarea senzației de dulce), sunt puternic calorigene, se absorb repede și sunt în general, lipsite de vitaminele complexului B, care însoțesc glucidele polimerizate provenite din cereale. Consumul lor în exces expune la frapante dezechilibre alimentare. Examinând în timp dinamica producției și a consumului de produse zaharoase, constatăm că ele constituie apanajul secolului nostru și a crescut vertiginos concomitent cu producția industrială a zaharozei rafinate, extrasă din trestie sau din sfeclă. Consumul de zahăr și produse zaharoase pe cap de locuitor a ajuns actualmente, în unele situații la 25 – 60 kg pe an. În România acest consum a fost de 17 kg în anul 1968 (Mincu și Hâncu, 1976).

Se consideră că, în condițiile unei alimentații obișnuite, consumul mediu de zahăr poate să se ridice până la maximum 20 kg, fără riscul dezechilibrelor evidente. Totuși, chiar în cadrul acestei medii rezonabile, abuzurile constatate la anumite grupuri de consumatori (femei, copii) pot expune organismul la tulburări, fapt care a determinat pe unii autori să introducă sugestivul termen de “zacharine disease” (boala hidraților de carbon rafinați).

Consumul de glucide sub formă de băuturi – sucuri de fructe în care există zahăr rafinat sunt incriminate pentru producerea obezității la copii (Dietz, 1983; Himes și Dietz, 1994; Ludwig et al., 2001; Mrdjenovic și Levitsky, 2003; Hedley, 2004). În relație cu metabolismul glucidic s-au întreprins studii care au urmărit evaluarea toleranței la glucoză la copii și adolescenți (Shinha et al., 2002). Acestea au fost corelate cu riscul pentru obezitate.

Tulburările consecutive excesului de alimente de acest tip sunt:

- c) *Supraalimentația și obezitatea exogenă*, cu toate consecințele ei, expuse sumar anterior.
- b) *Dislipidemia*. Consumul excesiv de zaharuri simple frânează mobilizarea grăsimilor de rezervă și favorizează instalarea dislipidemiilor. Deși factorul acesta este incriminat foarte des drept cauză a aterosclerozei.
- c) *Diabetul zaharat*. Prin *stress*-ul hiperglicemic repetat și consecutiv ingestiei crescute de glucide simple, rafinate, ce trec repede în aparatul circulator, supraîncărcându-l, se suprasolicită pancreasul. Insuficiența pancreatică sau chiar diabetul se instalează, în astfel de condiții, cu atât mai rapid, cu cât coexistă o predispoziție ereditară, un diabet latent sau o sensibilitate, determinate de o afecțiune pancreotropă (hepatită, oreion, pancreatită). Există numeroase observații epidemiologice, care atestă legătura între raportul excesiv de glucide și prevalența crescută a diabetului. Astfel, consumul de zahăr, care a crescut foarte mult în secolul nostru, se însoțește de o înmulțire a cazurilor de diabet. Această boală, care constituia, la începutul secolului nostru, cam a 30-a cauză de deces, după 50 de ani a devenit, în unele țări, a 3-a (incidența diabetului s-a ridicat în acești ani de la mai puțin de 0,5% până la 4 – 5%, - ex.: S.U.A., Franța etc.). Locuitorii zonelor nordice ale pământului (eschimoșii, islandezii etc.), care își acoperă 80 – 90% din valoarea calorică a rației alimentare cu grăsimi și proteine, fac foarte rar diabet. La grupurile care s-au adaptat însă la alimentația cu consum mărit de glucide, se observă o creștere explozivă a prevalenței diabetului. Mulți statisticieni subliniază rolul deosebit de nociv al glucidelor rafinate.
- d) *Dezechilibrul tiamino-glucidic*. Prin consum excesiv de dulciuri rafinate, se ajunge la o carență secundară de tiamină, datorită dezechilibrului între aport (diminuat) și necesitate (mărită), deoarece catabolizarea glucidelor în exces mărește concomitent nevoia de vitamină B₁ (tiamină). Dezechilibrul este și mai mult amplificat când se consumă pâine albă (în exclusivitate), paste făinoase realizate din făină cu extracție mică, orez glasat etc., care conțin cantități reduse de tiamină, datorită îndepărtării la cernere a stratului aleuronic și embrionului bobului de grâu, unde sunt depozitate vitaminele. Chiar în condițiile unei alimentații fără abuz de produse zaharoase, înlocuirea pâinii negre sau mai ales a celei intermediare (sursa principală de vitamina B₁) cu pâinea albă, determină un anumit grad de carență. Carența se accentuează în țările unde consumul de alcool este crescut, deoarece catabolismul acestuia este, de asemenea, tiamino-dependent. Prin realizarea discrepantei dintre aport-necesitate, se

produc tulburări metabolice însoțite de creșterea lactacidemiei și piruvemiei. Grupele de populație unde nevoia de tiamină este în mod fiziologic crescută sunt cele mai vulnerabile (femei în perioada de sarcină, alăptare, copii în perioada de creștere etc.). Dezechilibrul tiamino-glucidic a fost descris frecvent la copiii din țările occidentale și este cunoscut sub denumirea de distrofie prin făinoase și dulciuri. Acești copii, deși par eutrofici din cauza hidrofiliilor consecutive acidozei determinate de carență, au o rezistență antiinfecțioasă foarte scăzută, sunt apatici, cresc greu și prezintă o mineralizare defectuoasă datorită inapetenței consecutive.

- e) *Acțiunea cariogenă.* Una dintre cele mai directe relații de condiționare a sănătății umane prin aportul alimentar dezechilibrat o constituie răspândirea cariei dentare. Numeroase studii epidemiologice au stabilit o prevalență a leziunii carioase direct influențată de natura alimentației. Această relație s-a observat chiar la adoptarea alimentației bogate în glucide în țări unde prevalența cariei era foarte mică, cum erau zonele arctice (alimentație predominant animală) sau cele tropicale (alimentație predominant vegetală) și unde incidența cariei a crescut brusc și în directă legătură cu amploarea consumului de zahăr sau produse zaharoase.

2.6.3. EXCESUL DE NUTRIENȚI ENERGOGENI

Adeseori, excesul de calorii este determinat fie de un consum suplimentar (față de necesitățile organismului), fie de diminuarea efortului fizic, fie, cel mai adesea, de existența ambelor cauze.

La această situație se ajunge foarte frecvent în țările puternic industrializate. Aceasta se explică, în primul rând, prin elaborarea de noi rețete pentru produse alimentare, atrăgătoare din punct de vedere organoleptic, și bogate în nutrienți lipidici și glucidici, în cele mai multe cazuri. Produsele alimentare sunt ambalate agreabil și lansate cu ajutorul unor campanii publicitare susținute, stimulând consumul fără discernământ.

În al doilea rând, datorită progresului tehnologic al măririi productivității și randamentului muncii, efortul fizic depus de om este preluat tot mai mult de mașini, accentuând sedentarismul generat de epoca televizorului și a automobilului. În asemenea condiții, chiar un consum alimentar modest poate deveni, pe nesimțite, supercaloric.

Surplusul caloric se teaurizează de către organism în depozite lipidice, determinând apariția *obezității*. În general, se ia drept criteriu al obezitității excesul ponderal de peste 20% față de greutatea teoretică normală. Incidența obezitității are o anumită geografie care se

suprapune cu zonele unde se realizează condițiile amintite mai sus (Kennedy și Powell, 1997; Liepa et al., 1980; Hill și Trowbridge, 1998).

În Franța, de exemplu, 50% dintre persoanele de peste 40 ani suferă de un exces ponderal moderat. În S.U.A., 30 – 40% au o obezitate constituită. O situație asemănătoare, cu oarecare variațiuni în jurul acestor valori, caracterizează în general și celelalte zone afectate de superconsum (Mincu și Hâncu, 1983).

Excesul ponderal, care în marea majoritate a cazurilor este determinat de excesul caloric, nu mai este considerat astăzi un criteriu estetic sau chiar de bunăstare fizică, așa cum era apreciat cândva, ci, dimpotrivă, ridică probleme importante de patologie. Obezitatea constituie preludiul multor boli cronice ca: hipertensiunea arterială, diabetul, ateroscleroza cu inerente complicații în care cele mai importante sunt: bolile cardiovasculare, litiaza biliară, reumatismul cronic, artroze, astm, eczeme etc.

Diabetul apare, de exemplu, la obezi, cu o incidență de 35%, iar după unii autori chiar de 60–70%. Boala coronariană apare de 2–3 ori mai frecvent la supraponderali. Coronaropatia aterosclerotică a fost identificată în proporție de 12% la autopsia cadavrelor slabe, în comparație cu 41% la cele obeze.

Dezechilibrarea rației se face, cel mai frecvent, prin consum excesiv de alimente dulci (produse zaharoase), produse cerealiere puternic rafinate, sau grăsimi, de diferite tipuri.

Privind problema dezechilibrelor alimentare, tratată în această subcapitolă modul general (de la cauză la efect) și făcându-se referire la stările de hiperlipidemie și hiperlipoproteinemie se consideră că a existat și continuă să existe un „nivel gnosologic deficitar” (Mincu, 1993). Cauza reală pare a fi insuficienta cunoaștere a biochimiei lipidelor și lipoproteinelor și lipsa unui concept integrativ privitor la mecanismele de transport și stocare a acestor compuși în țesuturi și în lichide biologice.

Treptat s-au elucidat unele aspecte privind hiperlipidemiile, distingându-se și diferențiindu-se formele de hipercolesterolemie, hipertriacilgliceridemie și hiperlipidemia mixtă (cu creșterea triacilgliceridelor și colesterolului).

De asemenea, s-au evaluat manifestările hiperlipoproteinemiilor cu formele caracteristice, caracterizate prin creșterea HDL-colesterolului și LDL-colesterolului.

Pentru clasificarea acestor informații, așa cum s-a arătat, au fost inițiate lucrări ample de cercetare a unui grup de lucru de eminenții lipidologi de Institutul Național de Cardiologie și Pneumologie din Bethesda – SUA. S-au stabilit principiile directoare privind investigarea lipidelor și lipoproteinelor, clasificarea, diagnosticul și particularitățile legate de patobiochimia și fiziopatologia stărilor de hiperlipidemie (HL) și hipercolesterolemie (HLP)

numite stări HL-HLP (Fredrickson et al., 1967). În fine, trei ani mai târziu, în 1970, a avut loc la Geneva un congres cu participarea elitelor în domeniul lipidologiei care, au elaborat un « Memorandum cu privire la stările HL-HLP » .

Acest Memorandum a fost destul de repede acreditat de WHO, fiind utilizat pe plan internațional pentru considerentul că a fost fundamentat pe baze solide de biochimie (lipidologie), fiziologie și patologie prin corelarea problemelor de lipidemie – lipoproteinemie- aterogeneză. Deci, se poate spune că s-a făcut pasul de la biochimie la patobiochimie și apoi la fiziopatologie.

Cercetările în acest domeniu, implicit cercetări efectuate la vârsta adolescenței care, au menirea de-a evidenția – prin caracterul predictiv – relația dislipidemiei cu posibila declanșare în timp a proceselor aterogene.

3. CONTRIBUȚII LA INVESTIGAREA STATUSULUI HOMEOSTAZIEI BIOCHIMICE SANGUINE A UNOR FRAȚIUNI LIPIDICE ȘI LIPOPROTEINICE

3.1. CONSIDERAȚII GENERALE

Investigarea homeostaziei biochimice a metaboliților din serul sanguin uman la diferite vârste prezintă interes major pentru decelarea modificărilor biochimice ale acestora în relație cu caracteristicile dinamice ale proceselor biologice între care relevante sunt: metabolismul, homeostazia și cronobiochimia (Baciu, 1970; Benson și Fensom, 1985; Devlin, 1992).

Cu referire la cronobiochimie sunt mai cunoscute aspectele legate de modificările ultra-, circa- și infradiene. O succintă reiterare a principalelor aspecte de cronobiochimie poate oferi informații privind înțelegerea complexității modificărilor de interes fiziologic și fiziopatologic cu implicații asupra homeostaziei biochimice.

Interacțiunile biochimice specifice proceselor metabolice se desfășoară în timp și spațiu, acest fapt conferă sistemelor biologice posibilitatea de corelare sub raportul cronobiochimiei și topobiochimiei. Procesele metabolice desfășurate în organism mențin statusul diverselor funcții (e.g. respirația, circulația, etc.) și nivelul relativ constant al unor metaboliți (e.g. metaboliți decelați în sânge: calciul, fosforul, glucoza, lipidele, lipoproteinele, protidele, etc.). În realitate s-a putut observa că pentru același proces biologic există alternanțe periodice cu „timpuri în care scad” și „timpuri în care cresc” diverse valori. Variațiile biochimice se manifestă de o manieră regulată, periodică și previzibilă, având trăsăturile unui ritm. Această observație a condus la acreditarea și consacrarea noțiunii de „ritm biologic” (Halberg, 1969; Reinberg și Smolensky, 1983).

Cronobiochimia se definește prin variația cuantumului metaboliților dată de modificările biochimice, validate statistic, care au un caracter ondulatoriu și reproductibil în anumite domenii de frecvență (Garban, 1999).

Investigarea metaboliților glucidici, lipidici, protidici și a bioelectroliților din țesuturi și lichide biologice la om poate oferi informații asupra homeostaziei biochimice a perturbărilor cu specific dishomeostazic care se pot afla la originea stărilor patologice. Dacă

astfel de investigații sunt corelate cu vârsta subiecților informațiile sunt utile din punctul de vedere al cronobiologiei și cronopatologiei (cazul bolilor sistemului cardiovascular, a sistemelor osteo-articular etc. (Watkin, 1983; Eremia, 1996; Garban, 1999). De asemenea, se pot constitui în surse documentare pentru coordonarea acțiunilor terapeutice – cronofarmacologie (Halberg, 1969; Reinberg și Smolensky, 1983).

Cu referire la cronobiologie, cronopatologie se pot efectua investigații asupra modificărilor homeostaziei biochimice în cazul afecțiunilor reumatismale (spre exemplu, glicozaminoglicani, calciu, fosfor), ale afecțiunilor cardiovasculare (spre exemplu, lipide, lipoproteine, magneziu, cupru, zinc etc), al unor afecțiuni osoase: osteoporoză, osteomalacie (spre exemplu, calciu, fosfor, magneziu, hormoni paratiroidieni etc.).

În prezenta teză s-a procedat la investigarea fracțiunilor lipidice și lipoproteice serice în perioada de adolescență, urmărindu-se corelarea cu date somatometrice. În această manieră se poate evalua caracterul predictiv al informațiilor oferite de modificările homeostaziei biochimice la diverși subiecți supuși investigației.

Se poate face remarcă faptului că modificările biochimice ale cantitatii metaboliților sunt condiționate genetic. Deci, se poate conchide că există o “programare genetică” (sau cu un termen mai uzual o “codare genetică”) în relație cu cronobiochimia. Astfel se explică existența unor așa numite “predispoziții” genetice care conduc la perturbări biochimice traduse prin modificări ale glicemiei (în glicemoze), ale lipidemiei și lipoproteinemiei (în dislipidemii), a unor proteine serice (în enzimopatii).

Privită într-un context mai larg, cronobiochimia - și în general cronobiologia - abordează problema rolului ritmurilor biologice (bioritmurilor) și implicațiilor acestora în integrarea sistemelor biologice. Bioritmurile sunt grevate de modificări biochimice și fiziologice, variabile în timp (Dose și Dose-Bieger, 1991; Hăulică, 1996).

Bioritmurile, ca expresie a proceselor biochimice, se pot extinde pe un domeniu de timp extrem de mare, de la 10^{-3} până la 10^8 secunde. Gruparea acestora se face în: ritmuri cu microintervale - cu perioade de ordinul secundelor sau minutelor; ritmuri cu macrointervale - a căror perioadă este de ordinul orelor, zilelor, lunilor sau anilor (Garban, 1999).

Uzual, gruparea bioritmurilor se face în trei clase mari, stabilite în funcție de “tipul de periodicitate”. Astfel s-au decelat ritmuri:

- a) ultradiene - care privesc oscilațiile cu perioade mai scurte: de la câteva fracțiuni de secundă, la minute și chiar ore;
- b) circadiene - a căror durată este de aproximativ 24 ore (în principiu este cuprinsă între 21-28 ore);

- c) infradiene - la care perioada este de mai multe zile (e.g. de 7 zile - ritmuri hebdomadare), de aproximativ o lună (ritmuri circamensuale), și cca un an (ritmuri circanuale sau seleniene).

Estimându-se bioritmurile unor procese fiziologice - la baza cărora stau mecanismele biochimice și biofizice - se remarcă o mare variație a periodicității acestora. Astfel, s-a constatat că la om periodicitatea bioritmurilor (exprimată în secunde) este: în procesele neuronale 10^{-3} - 10^0 s (e.g. la encefalogramă 10^{-2} s); în mișcările respiratorii cca. $0,27 \cdot 10^0$ s; în mișcările peristaltice 10^1 s; în circulația sanguină 10^1 - $10^{2,5}$ s; în procesele circadiene sau nictemerale cca. $0,864 \cdot 10^5$ s; în procesele seleniene $2,593 \cdot 10^6$ s; în procesele circanuale $3 \cdot 10^7$ s (Garban, 1999).

Studiile de endocrinologie au arătat că la om există efecte cronobiochimice specifice bioritmului circadian mai intense în perioada nocturnă: existența hormonului de creștere, a prolactinei și melatoninei se intensifică noaptea.

În cronobiochimie se disting modificări importante și în ontogeneză. În acest sens se exemplifică modificările cronobiochimice ale hormonilor steroizi cu diferențe importante de la perioadele juvenilă, adultă și de senescență. Acestea sunt frecvent abordate în patobiochimia proceselor oncogene și, în ultimele decenii, în patobiochimia aparatului circulator.

În biochimia sistemului endocrin la om s-au studiat și efectele gonosomilor (cromosomi specifici sexului), la femeie XX și la bărbat XY. S-au remarcat la femeie modificări în jurul vârstei de 45-50 ani, iar la bărbat la 55-60 ani. În general, în legătură cu sistemul endocrin și senescența se afirmă că hormonii nu provoacă dar participă la procesul de senescență. Această afirmație se corelează cu faptul că hormonii estrogeni (feminini) și androgeni (masculini) nu sunt doar hormoni sexuali, sunt și hormoni anabolici.

În ultimele două decenii s-au extins cercetările referitoare la biochimie (mai exact spus la patobiochimie) în relație cu metabolismul lipidelor și lipoproteinelor. Acestea s-au dovedit importante în patologia bolilor cardiovasculare (cercetări efectuate pe subiecți adulți și vârstnici) și în prevenirea acestora afecțiuni (cercetări efectuate la copii și adolescenți).

Manifestarea bioritmurilor și a modificărilor cronobiochimice specifice acestora sunt condiționate de originea fenomenologică (intrinsecă și extrinsecă) și de procesele metabolice.

Prin origine, bioritmurile prezintă o componentă intrinsecă - determinată de factori interni înscriși în programul genetic și transmiși ereditar (e.g. activitatea cordului, ciclul estral ș.a.) și o componentă extrinsecă - determinată de factori de mediu e.g. termoreglarea, diureza etc. - majoritatea cu determinismul zi-noapte.

Așa cum s-a menționat, modificările cronobiochimice mai sunt condiționate și de procesele metabolice. Aceste procese sunt definite prin interacțiunile biochimice cata- și anabolice. Evident în acest cadru se include alimentația (predilect macronutrienții glucidici și lipidici), regimul de viață etc.

Bioritmurile, privite în ansamblu, au caracter ubicvitar. Se distinge astfel o bioperiodicitate morfofiziologică, interesând: interacțiunile biochimice – spre exemplu mediatorii biochimici; variațiile biofizice - spre exemplu potențialul de membrană; procesele fiziologice - spre exemplu cronotropismul cardiac; modificările morfologice - spre exemplu cordul în alternanță sistolă-diaistolă. În toate aceste situații la originea bioperiodicității se află modificările cronobiochimice, studiul acestora însă necesitând o abordare interdisciplinară.

În cronobiochimie există anumiți parametri caracteristici. În acest context, Halberg (1980) relevă existența unor parametri caracteristici pentru fiecare ritm biochimic, biofizic sau fiziologic (Pora, 1981; Kernbaum, 1990). Definirea acestora se prezintă în continuare: a) perioada - care corespunde duratei unui ciclu complet de variație; b) acrofaza - corespunde unui vârf maxim (pic) al mărimii cronobiochimice în perioada considerată; c) amplitudinea - care se definește prin jumătatea variației totale a unei mărimi cronobiochimice (luată în studiu) pentru o perioadă considerată. În ansamblu, există o variație a funcției, care se realizează de o parte și alta a unui nivel al ritmului. Trasarea curbei sinusoidale - specifice bioritmului - se realizează integrativ pe baza măsurărilor experimentale.

Cronobiochimia, ca domeniu, s-a circumscris treptat prin acumularea datelor experimentale și aprofundarea investigațiilor fundamentale și aplicative asupra interacțiilor care au loc la nivel molecular între diverșii reactanți chimici endogeni (produși ai unui metabolism normal sau viciat) sau exogeni (atmosferici, alimentari sau medicamentoși). În organismele animalelor și omului există numeroase variații cu caracter ritmic la baza cărora se află reacții biochimice periodice. Cronobiochimia explică și unele modificări ale homeostaziei biochimice (interesând diverși metaboliți) dar și a homeostaziei termice (corelate cu termogeneza și termoliza).

Efectele modificărilor cronobiochimice nu se limitează doar la variații circadiene, extinzându-se și la nivel selenian (lunar) și chiar la nivel circanual (sezonier). La scară biologică s-a constatat că bioritmurile se modifică în cursul deceniilor, existând importante variații de la tineri la adulți și vârstnici (Eremia, 1996).

În cronobiochimie o importanță specială prezintă autonomia și sincronizarea bioritmurilor. Bioperiodicitatea se prezintă ca un fenomen propriu organismelor. Aceasta are o componentă endogenă (genetică), aflată la originea “autonomiei” bioritmurilor. Există însă

și posibilitatea de “sincronizare” în raport cu arealul existențial. Acest aspect tributar factorilor exogeni - a fost studiat mai mult la bioritmurile circadiene.

Chestiunea autonomiei bioritmurilor este discutată în relație cu existența unei “programări genetice”. Deci prezintă origine endogenă. Factorul genetic explică atât modificările cronobiochimice calitative și/sau cantitative ale unor efectori biochimici intrinseci (e.g. hormoni, electroliți) cât și existența unui biofeed-back în sistemul neuroendocrin - problema abordată mai mult în fiziologie și neurobiochimie. Similar se abordează și problema perturbării metabolismelor materiale, e.g.: glucidic, lipidic etc. (Mincu, 1978; Davidson și Sittman, 1994; Bloch, 1960; Neamțu, 1997).

Problema sincronizării bioritmurilor relevă faptul că organismul are capacitatea de a-și ajusta ritmul (e.g. procesele metabolice) în funcție de periodicitatea exterioară utilizând diverse semnale din mediu. Astfel, spre exemplu, variațiile intensității luminoase (noapte, zi, lumina crepusculară); variațiile temperaturii; modificările de presiune; modificările nivelului zgomotelor etc, pot reprezenta factori de mediu externi cu rol de stimuli. Factorii de mediu extern, naturali sau artificiali, care acționează asupra unui bioritm sunt denumiți cu un termen generic “sincronizatori”. Sincronizatorii pot fi manipulați sub raportul duratei de acțiune necesară ajustării bioritmului (i.e. sincronizării). Spre exemplu, ciclul lumină-întuneric, temperatura ambientală pot fi modificate în cadrul bioritmului circadian.

Sub aspect cronobiochimic sincronizarea se corelează cu modificări în metabolismul material (protidic, lipidic, glucidic, hidroelectrolitic e.g.: cromoproteide (hemoglobina la animale, clorofila la plante); nucleoproteide; lipide (glicerofosfolipide, steride); glucide (glicogen - la animale; celuloza, amidonul - la plante).

Privit într-un context mai larg studiul problemelor de cronobiologie - cu fundamentul acestora cronobiochimia - a făcut posibilă constatarea că bioritmurile sunt consecința proceselor existente la nivelul celulelor, țesuturilor, organelor, sistemelor de organe sau chiar a populațiilor (spre exemplu, migrarea la păsări, hibernarea la mamifere).

Extinderea studiilor de cronobiochimie la om și animale a condus la elucidarea a numeroase probleme și conexiuni interdisciplinare, determinând apariția și circumscrierea unor noi domenii, cum ar fi: cronofiziologia, cronopatologia, cronofarmacologia, cronotoxicologia.

O direcție majoră a unor astfel de studii este studiul lipidelor și, conex, al lipoproteinelor serice la diverse vârste. În această manieră se vor putea efectua corelații de interes biomedical, datele extinzându-se la patologia biochimică (patobiochimia) aparatului cardiovascular (Hickie et al., 1974; Morrison et al., 1978; Klag et al., 1993; Guillaume et al., 1997; Garban et al., 2005c).

Toate datele referitoare la modificările de quantum (e.g. concentrația plasmatică, concentrația serică), de structură în relație cu etatea subiecților pot avea caracter predictiv.

În lucrările de specialitate din literatura de circulație internațională se arată că astfel de studii întreprinse în diverse decade de vârstă se pot constitui în sinteze documentare care au caracter de „ghid pentru conduita preventivă” (în limba engleză există un termen consacrat, utilizat curent pentru astfel de situații „guidelines”) a diverselor afecțiuni cronice. În investigarea lipidelor sau a principalelor fracțiuni lipidice pot sta la baza cercetării dislipidemiilor și implicației acestora în afecțiunile cardiovasculare (Mincu și Hâncu, 1976; 1983; Srinivasan și Berenson, 1983; Klag et al., 1993; Tortolero et al., 1997).

3.2. EȘANTIONAREA SUBIECȚILOR PENTRU INVESTIGAȚII

Pentru încadrarea domeniului de vârstă al adolescenților care au constituit eșantionul de subiecți investigați s-a utilizat drept normativ Raportul 731/1986 al Organizației Mondiale a Sănătății (notat uzual OMS sau WHO). În raport se face distincție între perioada de „adolescență” și „tinerețe”. În acest sens se menționează că adolescența cuprinde domeniul de vârstă 10-19 ani, iar tinerețea domeniul de vârstă 15-24 ani. Cu referire la această clasificare a grupelor de vârstă se amintește faptul că perioada sub 10 ani este corespunzătoare copilăriei, iar sub raport pragmatic perioada de tinerețe este considerată, în general, 10-24 ani.

În fine, pentru a se evita confuziile dintre abordările pragmatice și propunerea din Raportul WHO se face precizarea că o mai corectă subdiviziune ar fi aceea a domeniilor de vârstă bazate pe subdiviziuni de 5 ani și anume: 10-14; 15-19; 20-24. Subdiviziunea de vârstă în cadrul perioadei de adolescență 10-19 ani este sugerată de apariția perioadei de pubertate (cca 15 ani).

Perioada de adolescență este caracterizată prin tranziții importante din punct de vedere al caracteristicilor morfologice, fiziologice și psihologice. În acest cadru se menționează:

- dezvoltarea biologică – de la pubertate la dezvoltarea sexuală deplină și maturitatea de reproducere;
- dezvoltarea psihologică - de la comportamentul cognitiv și emoțional al perioadei de copilărie la acela al perioadei de adult;
- trecerea de la stadiul de copilărie al totalei dependențe socio-economice, la stadiul relativei independențe.

Raportul WHO 731/1986 face și referiri la mileniul III; arătând că estimativ grupa de vârstă 10-24 ani va reprezenta cca 30% din populație. Se face și o referire generală la relația adolescență-dezvoltare. În acest context se arată că: Adolescența este o fază distinctă a

dezvoltării a cărei caracteristici esențiale depind de căile prin care factori biologici, psihologici și sociali se combină pentru a asigura atingerea stării de maturitate.

În cercetările întreprinse s-a procedat la efectuarea de investigații cu specific biochimic asupra unei populații de adolescenți, cu vârste între 10-18 ani, fete și băieți, dintr-o localitate rurală din vestul Banatului (Garban et al.,2004c; Garban et al., 2005; Aumüller et al., 2006a, 2006b).

Catagrafierea subiecților s-a realizat, prin utilizarea datelor de evidență din unitatea de învățământ în care sunt școlarizați, cu ajutorul directorului. După întocmirea tabelor alfabetice pe clase, s-a obținut consimțământul părinților de participare la studiu. Studiul s-a desfășurat în cursul unui an școlar, în două etape și respectiv două locații diferite:

Prima etapă: La unitatea de învățământ din localitate, unde au fost completate, în cadrul orelor de dirigenție, chestionarele distribuite fiecărui adolescent. Apoi, aceste chestionare au fost predate profesorului care însoțea elevii la investigațiile ce urmau a se desfășura la Timișoara au fost. Prin aceste chestionare s-au obținut detalii despre modul de viață al fiecărui adolescent, starea de sănătate a acestora, antecedentele heredo-colaterale, obiceiuri alimentare, gradul de școlarizare și ocupația al părinților etc.

Eșantioanele de cercetare au inclus 423 subiecți în total: din care 174 băieți (reprezentând 41,13%) – care au constituit eșantionul n_1 și 249 fete (reprezentând 58,87%) – care au constituit eșantionul n_2 .

Sunt ilustrate, în fig.3-1, eșantioanele luate în studiu cu repartizarea numerică și procentuală a subiecților.

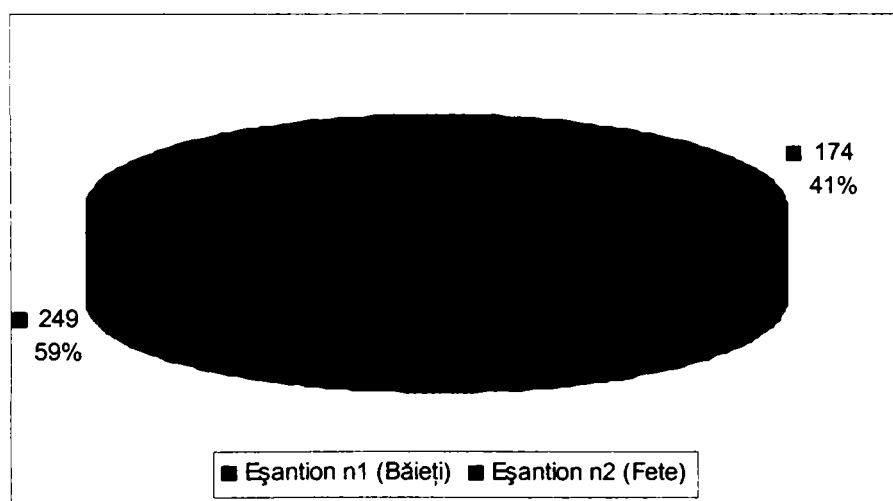


Fig.3-1. Repartiția procentuală a subiecților din eșantioanele n_1 și n_2

Subiecții luați în studiu - adolescenți (băieți și fete) au avut vârste cuprinse între 10-18 ani. Detalii privind numărul de subiecți din eșantionul n_1 și n_2 precum și repartiția acestora pe grupe de vârstă sunt redată în tabelul 3-1.

Tabel 3-1. Distribuția subiecților în cadrul eșantioanelor de băieți (n_1) și fete (n_2) luate în studiu

Grupe de vârstă (ani)	Eșantionul n_1 (băieți)		Eșantionul n_2 (fete)		Total subiecți	
	Număr subiecți	Procente (%)	Număr subiecți	Procente (%)	Număr subiecți	Procente (%)
10	15	8,62	14	5,62	29	6,85
11	23	13,22	33	13,25	56	13,23
12	29	16,66	45	18,07	74	17,50
13	35	20,11	26	10,44	61	14,42
14	30	17,24	36	14,45	66	15,60
15	13	7,47	36	14,45	49	11,58
16	18	10,34	25	10,04	43	10,16
17	8	4,60	16	6,42	24	5,68
18	3	1,74	18	7,26	21	4,98
Total	174	100,00	249	100,00	423	100,00

În datele tabelate se face o expunere pe vârstă și sexe a valorilor absolute – numărul de subiecți și a valorilor relative – procentul acestora.

Repartizarea numerică și procentuală a subiecților din eșantionul n_1 este redată în cadrul diagramei prezentate în fig.3-2. Aceasta reprezintă situația detaliată pe grupe de vârstă pentru băieți.

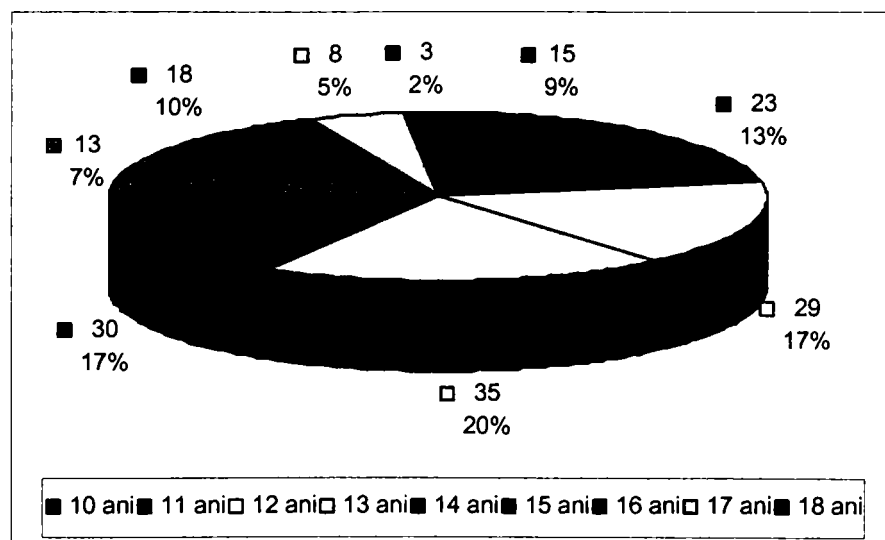


Fig. 3-2. Repartiția procentuală pe grupe de vârstă a subiecților din eșantionul n_1

Similar s-a procedat la prezentarea subiecților din eșantionul n_2 care este redată, de asemenea, numeric și procentual (fig.3-3). Situația relevă, sinoptic, grupele de vârstă care includ fetele.

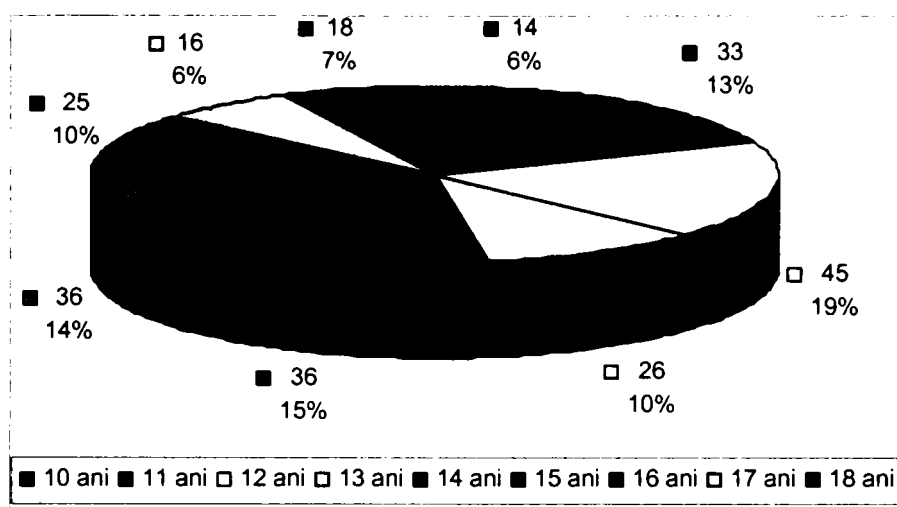


Fig.3-3. Repartiția procentuală pe grupe de vârstă a subiecților din eșantionul n_2

Se face remarcă faptului că datele se dau, conform uzanțelor internaționale, în cercetările științifice din acest domeniu, considerându-se vârsta dată în cifre unice, e.g. 10, 12, 13,14 ani etc. (se evită formularea de intervale de vârstă, e.g. 10-11 ani etc.). În astfel de situații, la sistematizarea datelor se iau în considerare intervale de ± 6 luni de la data examinării.

Secunda etapă: La Institutul de Sănătate Publică din Timișoara au fost efectuate investigații de interes biochimic prin metode specifice chimiei clinice; măsurători somatometrice și determinări fiziometrice. De asemenea, au fost preluate fișele-chestionar. Investigațiile de interes biochimic s-au efectuat doar dimineața, elevii fiind transportați, în mod planificat, cu microbuzul Primăriei, pus la dispoziția școlii de către edilii locali. Protocolul de lucru a fost standardizat pentru a obține date corecte și reproductibile. În acest sens, adolescenții și părinții acestora au fost instruiți asupra pregătirilor premergătoare deplasării la Timișoara.

S-a convenit a obține probele de sânge prin recoltare în cursul dimineții, între orele 8.30-9.30, după o perioadă de post riguros (12 ore), eliminându-se în acest fel efectul alimentelor ingerate asupra nivelului metaboliților serici investigați (în speță fracțiuni lipidice serice).

3.3. PRELEVAREA PROBELOR PENTRU ANALIZE

Standardizarea condițiilor de prelevare a probelor de sânge pentru analize, a fost necesară pentru diminuarea influenței factorilor de mediu asupra nivelului sanguin al diverselor fracțiuni lipidice și lipoproteinice.

Respectare perioadei „à jeun”, semnificând reținerea de la consumul de alimente, a fost controlată prin chestionarea subiecților prezenți la recoltare. Au fost excluși din lotul de recoltare elevii care au recunoscut că au servit micul dejun.

De asemenea, în limita posibilului s-a recomandat renunțarea la diverse medicamente, cu 3-4 săptămâni înainte de recoltare, cu mențiune specială pentru substanțe chimice care sunt hipolipidemianți discontinui, cum ar fi: estrogenii, anticoncepționalele orale, steroizii.

Majoritatea autorilor consideră că postul trebuie să fie de 12 – 14 ore, dar ultimele cercetări în domeniul lipidologiei au redus intervalul de post obligatoriu (Mincu și Hâncu, 1976). Se cunoaște faptul că după o perioadă de post relativ, cuprinsă între 8 și 10 ore, chilomicronii sunt prezenți în sânge numai în mod inconstant, deoarece fiind de origine intestinală, ei transportă îndeosebi trigliceridele exogene, dar sunt hidrolizați și dispar din circulație în cursul perioadei postprandiale.

Prelevare (recoltarea) probelor de sânge la eșantionul de elevi cuprinși în studiu s-a efectuat a jeun. În acest scop s-a procedat la compresia cu ajutorul unei benzi elastice (tip garou) aplicată la nivelul brațului (pentru a realiza o presiune asupra circulației venoase), dezinfecția locului la nivelul plicei cotului (sau a altei vene proeminente – după caz) cu un tampon și spirt. Apoi, s-a puncționat vena cu un ac și seringă sterile, de unică folosință. În momentul pătrunderii amboului acului în venă s-a îndepărtat banda elastică, iar după recoltarea cantității de sânge s-a extras acul și a fost tamponat locul înțepăturii pentru a opri sângerarea și a evita formarea hematomului.

Folosirea garoului a fost limitată doar la perioada de evidențiere și puncționare a venei, după care s-a înlăturat, deoarece unii autori au comunicat creșteri importante în concentrația lipidelor plasmatică ca rezultat al stazei sanguine prelungite. S-au raportat creșteri ale a colesterolului total de 10-15% datorită stazei produse în timpul recoltărilor deficitare (Mincu și Hâncu, 1976; Kaplan și Pesce, 1984).

Recoltarea sângelui s-a făcut cu multă atenție pentru a evita hemoliza, totuși au fost câteva probe compromise, ceea ce a dus la excluderea din studiu.

Pentru obținerea serului, sângele total recoltat (10 mL) prin venopuncură a fost transferat imediat din seringă, direct în vacutainere speciale de 10 mL și s-a lăsat, timp de o oră, la temperatura camerei până s-a format cheagul și acesta a început să se retracteze.

Dozările pentru triacilgliceride, colesterol total și HDL-colesterol s-au efectuat din ser (sânge fără elemente figurate și fără fibrinogen).

La sfârșitul intervalului de o oră, s-a făcut transferul serului în eprubete de centrifugă. Separarea serului de hematii s-a realizat prin centrifugare, folosind o mică centrifugă clinică, la 4.000 rotații per minut timp de 10 minute. Supernatantul s-a folosit apoi la determinările specifice.

După centrifugare, serul a fost separat de hematii folosind o pipetă specială. Din probele de ser astfel obținute de laboratorul de biochimie s-au determinat următorii parametri: colesterolemie totală, HDL-colesterolemie, trigliceridemie ș.a.

3.4. METODELE DE DETERMINARE A FRAȚIUNILOR LIPIDICE ȘI LIPOPROTEINICE LUATE ÎN STUDIU

Chimia analitică și bioanalitică modernă are multiple aplicații în chimia clinică – interesând statusul metaboliților din organismul uman în scop prognostic, diagnostic și terapeutic (Franke et al., 1977; Kaplan și Pesce, 1984; Feuer și Iglesia, 1985) și în chimia alimentară - urmărind cuantumul nutrienților (principiilor nutritive) – implicit a macro-nutrienților lipidici (Guthrie, 1975; Ganong, 1995).

În aceste circumstanțe, lipidologia (i.e. biochimia și patobiochimia lipidelor) a cunoscut o perioadă de extindere și aprofundare.

Astfel au fost introduse în practica analitică, alături de metodele clasice și metode noi de determinare a diverselor fracțiuni lipidice: la triacilgliceroli (Bucolo și David, 1973; Fossati și Prencipe, 1982; Raitakari et al., 1995); la colesterol (Gottfried și Rosenberg, 1973; Allain et al., 1974). Similar s-a procedat la fracțiunile lipoproteice: la HDL-colesterol (Zlatkis et al., 1953; Assman et al., 1983; Whitting et al., 1997); la LDL-Colesterol (Friedewald et al., 1972; Kerscher, 1985; Yu et al., 2000; Nauck et al., 2002; Sahu et al., 2005).

Există, de asemenea, studii privitoare la faptul că non-HDL-Colesterolul are caracter predictiv pentru bolile cardiovasculare atât la tinerii cu părinți și/sau bunici având hipercolesterolemie cât și în diabetul zaharat de tip 2 (Mincu și Hâncu, 1983; Copperman et al., 2001; Lu et al., 2003).

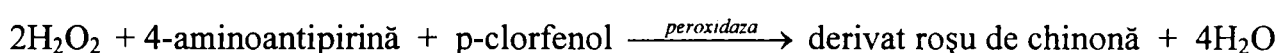
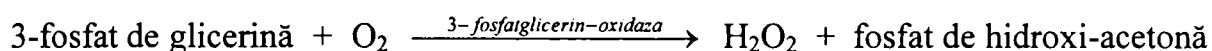
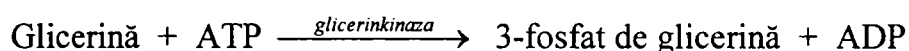
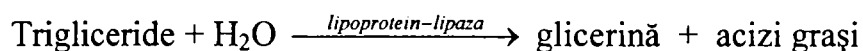
S-a utilizat un analizor LABSYSTEMS'FP-901 cu procesor, folosind kituri speciale specifice analizorului. De remarcat faptul că metodele analitice utilizate sunt, în facto, metode uzitate current în chimia clinică. Selectarea acestora se face în cazul analizoarelor după criterii acreditate de firmele producătoare de analizoare destinate laboratoarelor de chimie clinică și chimie bioanalitică.

3.4.1. DETERMINAREA TRIACILGLICERIDELOR SERICE

Metoda enzimatică pentru determinarea triacilgliceridelor serice (denumite adesea și trigliceride sau triacilgliceroli) s-a utilizat un set de reactivi speciali – menționați în continuare. Metoda – bazată pe reacții enzimatică – este de tip spectrofotometric (Bucolo și David, 1973; Fossati și Prencipe, 1982). Măsurătorile spectrofotometrice, efectuate la lungimea de undă (λ) mai mare de 505 nm (490-550 nm) au stabilit valorile absorbanței care s-au luat în calcul.

Principiul metodei.

Se redă succint prin prezentarea succesiunii de reacții enzimatică la care participă lipoprotein lipaza; glicerinkinaza, 3-fosfat-glicerin-oxidaza și peroxidaza:



Materiale, ustensile.

Reactivi: *Reactivul 1* (R_1): tampon PIPES, pH=7,2 - 50 mmol/L; p-clorofor - 2 mmol/L

Reactivul 2 (R_2): Lipoproteinlipază - 150000 U/L; Glicerinchinază - 800 U/L; 3 - fosfat-glicerin-oxidază - 3000 U/L; Peroxidază - 350 U/L; 4-aminoantipirină - 0,7 mmol/L; ATP - 30 mmol/L

Standard: Glicerina (echivalentul de trioleină) cu valoarea de 2,28 mmol/L sau 2 g/L (deci concentrația standardului)

Proba: Ser sanguin nehemolizat.

Metoda de lucru.

Se pregătește amestecul de reactivi prin dizolvarea conținutului unui flacon de reactiv (R_2) în cantitatea corespunzătoare de reactiv (R_1).

Stabilitatea soluției s-a asigurat prin păstrarea în sticlă brună în următoarele condiții: la temperaturi de 20 - 25°C timp de 7 zile; la temperatura de 2 - 8°C timp de 28 zile

Pentru fiecare serie de determinări s-a preparat soluția standard și soluția martor.

Specificare	Martor	Standard	Proba
Amestec reactivi	1 mL	1 mL	1 mL
Apă distilată	10 μ L	-	-
Standard	-	10 μ L	-
Proba	-	-	10 μ L

După amestecare și incubare de 6 minute la 37°C sau de 20 minute la temperatura camerei s-a citit valoarea absorbantei probei (A_p) și absorbantei standardului (A_s) la 505 nm (490-550 nm), în cuve de 1 cm, față de martor.

Colorația probei este stabilă timp de 30 minute. Mod de măsurare: cu punct final.

Calculul rezultatelor:

Datele analitice finale, respectiv concentrația probei (C_p) s-a făcut după relația:

$$C_p = (A_p/A_s) \times n$$

în care: A_p – absorbanta probei

A_s – absorbanta standardului

n – concentrația standardului

Valori normale:

Bărbați: 0,65-1,85 mmol/L 0,5-1,6 g/L

Femei: 0,55-1,6 mmol/L 0,45-1,40 g/L

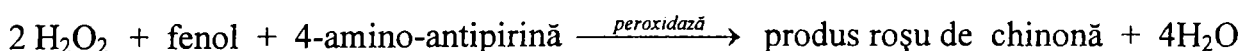
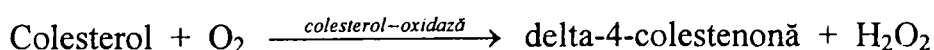
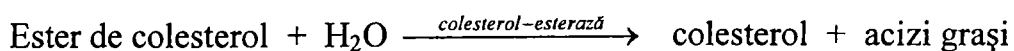
Transformarea datelor analitice ale triacilgliceridelor (TAG) din mmol/L în mg/dL se face prin înmulțirea valorilor exprimate în mmol/L cu 88,57- coeficient care definește „factorul de conversie” specific triacilgliceridelor.

3.4.2. DETERMINAREA COLESTEROLULUI TOTAL

Determinarea nivelului de colesterol total din ser s-a efectuat, de asemenea, printr-o metodă enzimatică-spectrofotometrică (Allain et al., 1974). Măsurarea absorbantei s-a făcut la lungimea de undă de 505 nm (490-550 nm).

Principiul metodei.

Se redă, în continuare, prin menționarea succesiunii de reacții în care s-au utilizat enzimele: colesterol-esteraza, colesterol-oxidaza, peroxidaza.



Materiale, ustensile.

Reactivi: *Reactivul 1* (R_1): Tampon PIPES, pH = 6.9; 90mmol/L și Fenol 26 mmol/L

Reactivul 2 (R_2): Colesterol-esterază de 300 U/L; Colesterol-oxidază de 300 U/L;
Peroxidază 1250 U/L; 4-aminoantipirina de 0,4 mmol/L

Standard : Colesterol de 5,17 mmol/L sau 2 g/L (aceasta reprezintă concentrația standardului luată în formula de calcul)

Proba: Ser sanguin nehemolizat

Metoda de lucru.

Se procedează la pregătirea amestecului de reactivi prin dizolvarea conținutului unui flacon de reactiv (R_2) în cantitatea corespunzătoare de reactiv (R_1). Stabilitatea soluției s-a asigurat prin menținerea în sticlă brună (durata de 15 zile la temperatura de 20- 25°C și 4 luni la 2- 8°C).

Fiecare serie de determinări a fost precedată de obținerea soluției martor și a soluției standard.

Specificare	Martor	Standard	Proba
Amestec reactivi	1 mL	1 mL	1 mL
Apă distilată	10 μ L	-	-
Standard	-	10 μ L	-
Proba	-	-	10 μ L

După amestecare și incubare de 10 minute la 37°C sau 25°C se înregistrează la spectrofotometrul analizorului absorbanta probei (A_p) și absorbanta standardului (A_s) la 505 nm (500-550 nm) sau în cazul unei lămpi de vaporizare de Hg la 546 nm, în cuve de 1 cm, față de martor. Mod de măsurare: cu punct final

Calculul rezultatelor:

Pentru calculul final al concentrației probei (C_p) se utilizează datele spectrofotometrice referitoare la absorbanta (probă standard). În acest scop se utilizează formula:

$$C_p = (A_p/A_s) \times n$$

în care: A_p - absorbanta probei

A_s - absorbanta standardului

n - concentrația standardului

Valori normale din ser: maximum realizat este 5,7 mmol/L

Transformarea datelor analitice pentru colesterol total (T-COL) din mmol/L în mg/dL se face prin înmulțirea valorilor exprimate în mmol/L cu 38,67 - coeficient care definește „factorul de conversie” specific colesterolului.

3.4.3. DETERMINAREA HDL-COLESTEROLULUI

Evaluarea cantitatii lipoproteinelor cu densitate crescută – HDL (High Density Lipoprotein) este extrem de importantă în evaluarea metabolismului lipoproteinelor serice, stabilirea statusului homeostaziei biochimice și – în caz de necesitate - pentru instituirea măsurilor preventive și/sau terapeutice în patologia biochimică a dislipidemiilor.

Principiul metodei.

Acidul fosfo-wolframic precipită din ser lipoproteinele de foarte mică densitate (VLDL) și lipoproteinele de mică densitate (LDL), în prezența ionilor de magneziu, chilomicroni, iar lipoproteinele de mare densitate (HDL) rămân în supernatant. Colesterolul (HDL-Colesterol) din supernatant se determină prin metoda enzimatică, utilizând spectroscopia la lungimea de undă 505 nm. Metoda de analiză a fost utilizată de Burnstein et al., (1970) și perfectată de Lopes-Virella și colab. (1977). Estimarea concentrației LDL-colesterolului din datele obținute se face, ulterior, după o formulă sugerată de Friedwald et al. (1972).

Materiale, ustensile.

Reactivi utilizați, doi la număr, sunt:

Reactiv R₁ : (reactiv de precipitare): Acidul fosfo-wolframic - 14 mmol/L; Clorură de magneziu - 2 mmol/L

Reactiv R₂ (reactiv complementar) : Trusă de reactivi pentru determinarea enzimatică, colorimetrică a colesterolului.

Standard: Colesterol în concentrație de 5,17 mmol/L. Se procedează similar metodei de determinare a colesterolului total.

Proba: Ser sanguin nehemolizat.

Metoda de lucru:

Separarea fracțiilor lipoproteidice se face prin utilizarea reactivului R₁.

Ser	500 μL
Reactiv de precipitare R ₁	50 μL

Amestecul a fost incubat timp de 10 minute la temperatura camerei, apoi s-a centrifugat la 4000 rpm timp de 20 de minute.

Specificare	Martor	Standard	Proba
Standard	-	20 μL	-
Proba	-	-	20 μL
Reactiv (R ₂)	1 mL	1 mL	1 mL

După amestecare și o incubare de 5 minute la 37°C sau 10 minute la temperatura camerei s-a citit absorbanta probei (A_p) și a standardului (A_s) la 505 nm (500-550 nm), în cuve de 1 cm, față de martor. Mod de măsurare: cu punct final.

Calculul rezultatelor:

În evaluarea rezultatului determinării, deci concentrația probei (C_p), se utilizează determinările asupra absorbantelor pentru probă și pentru standard. Se utilizează relația:

$$C_p = (A_p/A_s) \times n$$

în care: A_p – absorbanta probei;

A_s – absorbanta standardului

n – concentrația standardului

Valori normale: La o valoare normală de colesterol total (5,18 mmol/L) sau ușor mărită (5,18-6,22 mmol/L) avem:

Specificare	UM	Risc scăzut	Normal	Risc crescut
Bărbați	mmol/L	> 1,40	0,90-1,40	< 0,90
	g/L	> 0,55	0,35-0,55	< 0,35
Femei	mmol/L	> 1,70	1,20-1,70	< 1,20
	g/L	> 0,65	0,45-0,65	< 0,45

Transformarea datelor analitice privind HDL-colesterolul din mmol/L în mg/dL se face prin înmulțirea valorilor exprimate în mmol/L cu 38,67 - coeficient care definește „factorul de conversie” specific colesterolului.

3.4.4. DETERMINAREA LDL-COLESTEROLULUI

În laboratorul clinic au fost introduse în ultimele decenii metode specifice pentru determinarea LDL-Colesterolului (Friedwald et al., 1972; Yu, 2000; Bairaktari et al., 2005). S-au utilizat, în general, metode spectrofotometrice, unele din acestea bazaându-se pe reacții enzimatică (din acest motiv numite, în unele lucrări de lipidologie direct metode enzimatică).

Alături de metodele analitice directe pentru determinarea valorilor LDL-colesterolului se utilizează și procedee de calcul. Un studiu special privind determinarea LDL-colesterolului a fost întreprins de Friedwald et al (1972) în cadrul „Molecular Disease Branch of the National Heart and Lung Institute” din Bethesda – USA. În acest studiu se prezintă date

privind determinarea analitică – bazată pe un procedeu combinat : ultracentrifugare și precipitare, precum și determinarea prin calcul.

Determinarea analitică s-a făcut pentru LDL-colesterol: a) direct - din fracțiunea supernatantă după centrifugare și b) indirect - din fracțiunea infranatantă (suma HDL_C și LDL_C) care se scade din colesterolul total. Cu titlu informativ se menționează că ultracentrifugarea s-a făcut timp de 16 ore la 100.000 g folosind o centrifugă Spinco cu rotor special.

Determinarea prin calcul, introdusă în literatura de specialitate de Friedwald et al. (1972) se bazează pe relația :

$$\text{LDL}_C = \text{TC} - [\text{HDL}_C - (\text{TAG}/5)]$$

în care: TC – total colesterol

HDL_C - HDL-colesterol

LDL_C - LDL-colesterol

TAG - triacilgliceride

Valorile normale, conform acestui calcul se situează sub limita de 130 mg/dL.

Se menționează faptul că ecuația Friedwald nu se aplică în următoarele circumstanțe:

a) prezența chilomicronilor în sânge; b) cazul în care quantumul triacilgliceridelor excede 400 mg/dL (4,52 mmol/L).

Se menționează faptul că în literatura de specialitate există diverse notări pentru: triacilgliceroli (TAG sau TG); colesterol total (TC sau T-COL); HDL-colesterol (HDL_C , HDL_{COL} sau HDL-COL) și LDL-colesterol (LDL_{COL} sau LDL-COL).

Transformarea datelor analitice pentru LDL-colesterol din mmol/L în mg/dL se face prin înmulțirea valorilor exprimate în mmol/L cu 38,67 - coeficient care definește „factorul de conversie” specific colesterolului.

3.5. INVESTIGAȚII CU CARACTER SOMATOMETRIC

Investigațiile cu caracter morfofuncțional caracteristice în cercetarea experimentală din biologie și medicină, asociate frecvent cu studiul biochimic al metabolizării nutrienților, vizează în fapt două categorii de informații. Acestea privesc elemente morfologice – au caracter somatometric și fiziologice – cu specific fiziometric.

Somatometria urmărește date staturale, ponderale și anumiți „indici somatometrici”, între care mai important este indicele de masă corporală (v.Cap.4). Asupra acestor «parametrii somatici» se va reveni în continuare.

În cadrul cercetărilor întreprinse, după prelevarea probelor de sânge destinate determinării unor fracțiuni serice lipidice și lipoproteice s-a procedat la efectuarea de investigații de somatometrie staturală (talie subiecților) și de somatometrie ponderală (greutatea subiecților). În final s-a calculat și un indice specific.

Determinările somatometrice staturale și ponderale efectuate la om sunt cunoscute sub denumirea generică de «determinări antropometrice»

Determinările au fost efectuate pe subiecții sumar îmbrăcați, în spații cu microclimat adecvat, cu aparatură în prealabil verificată pentru exactitate.

a) Somatometria ponderală.

În cadrul somatometriei ponderale s-a procedat la determinarea greutatea corporale a subiecților cu ajutorul unui cântar special, destinat determinărilor antropometrice. Subiectul examinat a stat în picioare (poziție ortostatică), în mijlocul platformei cântarului. Greutatea a fost exprimată în kg.

b) Somatometria staturală.

Această măsurătoare somatometrică a urmărit determinarea înălțimii (statura sau talie) – distanța dintre vertex și regiunea plantară a picioarelor - cu ajutorul unui „antropometru metalic tip Martin” (considerat un instrument clasic în somatometria la om), cuprins într-un cadru de lemn și prevăzut cu o platformă. Pentru a obține date corecte subiecții au fost așezați cu spatele lipit de cadrul antropometrului, atingându-l cu călcâiele, fesele și omoplații. Brațele au stat de-a lungul corpului, palmele lipite de coapse, capul drept, cu privirea drept înainte. După asigurarea poziției corecte s-a fixat cursorul antropometrului pe tija verticală a acestuia, la nivelul vertexului. Rezultatele măsurătorilor de talie au fost exprimate în cm.

Se cunoaște faptul că date cu semnificație concludentă sunt furnizate de loturi mari (100-200 subiecți) structurate după sex și vârstă. Stabilirea vârstei se face în raport cu data examinării, considerând de aceeași vârstă copiii care prezintă la data examenului vârsta în ani împliniți \pm o abatere (de 6 luni în cazul copiilor între 4-18 ani).

Interpretarea datelor antropometrice în vederea aprecierii dezvoltării fizice s-a făcut prin raportarea valorilor individuale la normele orientative, pentru vârstă, sex și mediul (urban, rural) din care face parte copilul, cuprinse în standardele de stat. Pentru interpretarea corelativă a acestor date, este necesară prelucrarea lor după metode matematico-statistice.

c) Indexul de masă corporală .

Determinarea indexului de masă corporală – BMI (body mass index) s-a făcut prin calcul. Pe baza măsurătorilor somatometrice, prin cunoașterea valorilor de greutate (măsurată în kg) și înălțimea sau talie (măsurată în cm) s-a utilizat formula de calcul pentru masa corporală. Modalitățile de determinare, prin calcul, sunt prezentate într-un capitol special.

În studiu s-a urmărit cu acuratețe corelarea între datele somatometrice și mărimea valorilor determinate analitic, ale diverselor fracțiuni lipidice și lipoproteinice serice.

Fiziometria în investigațiile cu specific biomedical vizează cuantificarea unor măriri fiziologice care privesc: aparatul respirator, aparatul circulator, sistemul muscular etc.. Astfel, prin mijloace specifice fiziometriei se pot măsura capacitatea de adaptare funcțională al organismului (semn al dezvoltării morfologice), în raport cu vârsta, sexul condițiile de viață etc., prin determinări privind: capacitatea vitală a plămânilor, forța musculară a mâinilor, tensiunea arterială sistolică și diastolică, latența reacțiilor motorii ș.a. În această manieră se pot efectua predicții asupra aptitudinilor profesionale.

3.6. FRAȚIUNI LIPIDICE ȘI LIPOPROTEINICE LA EȘANTIOANELE LUATE ÎN STUDIU

Se reiterează faptul că eșantioanele au inclus tineri (elevi și eleve). Număr total al subiecților a fost de 423. Astfel, primul eșantion (notat n_1) a inclus un număr de 174 băieți, reprezentând 41,13% din total, iar secundul eșantion (notat n_2) a inclus un număr de 249 fete, reprezentând 58,87% din total.

După efectuarea determinărilor analitice prin metodele prezentate (v. Cap. 3.4.) s-a procedat la gruparea acestora pe vârste și pornind de la valorile primare s-au determinat mediile (X) și deviația standard (DS) – v. Williams, 1993. În continuare se vor discuta valorilor obținute pornind de la clase de compuși (i.e. fracțiuni lipidice și lipoproteinice).

3.6.1. INVESTIGAREA PRINCIPALELOR FRAȚIUNI LIPIDICE

Dintre fracțiunile lipidice, așa cum s-a menționat s-au investigat triacilgliceridele (TAG) și colesterolul total.

Studiul lipidelor în relație cu patologia biochimică a bolilor cardiovasculare a făcut obiectul unor cercetări de anvergură care interesează lipidele, lipoproteinele, apolipoproteinele atât ca și macronutrienți lipidici cât și ca bioconstituenți prezenți în țesuturi și lichide biologice (Skipski et al., 1967; Mensink et al., 1992; Mahley et al., 1995; Tolfley et al., 1998; Rashid și Roberts, 2000; Kouda et al., 2003).

Se impune, de la început, a face precizarea că la vârsta adolescenței modificările lipidelor serice, în speță a triacilgliceridemie și colesterolemiei, sunt condiționate predilect de factori alimentari (macronutrienți din clasa lipidelor și glucidelor) –fapt sesizat de o vastă literatură de specialitate (Skipski et al., 1967; William, 1977; Brison, 1982; Gunstone, 1983;

Newman et al., 1991; Brody, 1994; Wadden, 1994). Problemele legate de tulburări ale metabolismului lipidic și glucidic sau chiar unele tulburări hormonale nu sunt caracteristice pentru vârsta adolescenței (Snyder, 1977; Numa, 1984; Vance și Vance, 1991; Ensminger et al., 1995; Newman et al., 1995), deși nu poate fi exclusă și existența unor subiecți cu tulburări metabolice ereditare (Gregoire, 1971; Feuer și Iglesia, 1985; Winkleby et al., 1999).

3.6.1.1. Investigații asupra triacilgliceridelor

Datele analitice asupra triacilgliceridelor serice la eșantionul de băieți (n_1), expuse pe grupe de vârste, sunt redată în tabelul 3-2.

Tabel 3-2. Valori medii și domenii limită ale triacilgliceridelor serice la eșantionul care a inclus băieți

Grupe de vârstă (ani)	Număr subiecți			Valori analitice (mg/dL) $\bar{X} \pm DS$	Domenii limită individuale (mg/dL)
	Număr total (n_1)	Subiecți incluși în grupe			
		Date absolute	Date relative (%)		
10	174	15	8,62	66,0 ± 33,9	34 - 164
11		23	13,22	86,0 ± 37,2	32 - 193
12		29	16,66	76,7 ± 44,1	27 - 262
13		35	20,11	59,0 ± 25,1	26 - 116
14		30	17,24	52,8 ± 23,8	24 - 139
15		13	7,47	62,4 ± 26,4	37 - 120
16		18	10,34	67,5 ± 23,3	29 - 119
17		8	4,60	76,7 ± 20,4	46 - 105
18		3	1,74	80,3 ± 46,4	53 - 134

Pentru fiecare grupă de vârstă a subiecților, sunt redată valorile analitice medii. Pe o coloană specială se redă domeniul valorilor limită decelate analitic. Aceste valori au fost de 24,0 mg/dL, respectiv de 262,0 mg/dL preluate indiferent de grupa de vârstă. Numărul total al subiecților (n_1) este 174. În cadrul diverselor grupe de vârstă se pot remarca valori crescute ale triacilgliceridemieii la grupa de vârstă de 11 ani cu media 86,0 mg/dL, iar valori minime la vârsta de 14 ani cu o medie de 52,8 mg/dL.

Conform metodologiei de determinare a triacilgliceridemiei (TAG), valorile normale ale acesteia, la băieți, variază între 50-160 mg/dL. Luând în considerare acest interval de valori normale, putem concluziona că rezultatele medii obținute de noi se încadrează în limite normale. Valorile medii ale TAG cele mai ridicate au fost la grupa de vârstă de 11 ani, apoi au scăzut, până la grupa de vârstă de 14 ani. Începând cu grupa de vârstă de 15 ani TAG serice au crescut progresiv până la grupa de vârstă de 18 ani, dar nu până la mărimea valorilor aflate la 11 ani.

În literatura de specialitate există un studiu asemănător pe un eșantion de 7767 (dintre care 3980 băieți) copii cu vârste între 6-14 ani din Grecia, efectuat de Schulpis și Karikas (1998) care, au găsit un maxim al TAG seric la 11 ani, care apoi a scăzut până la 13 ani. În ceea ce privește valorile individuale, acestea au fost depășite la grupele de vârstă de 10, 11 și 12 ani.

Rezultatele triacilgliceridemiei la eșantionul de fete – care a inclus un număr mai mare de subiecți ($n_2 = 249$) sunt prezentate în tabelul 3-3. Estimându-se valorile limită, minimă – maximă, fără a ține seamă de grupa de vârstă, se distinge valoarea minimă de 25 mg/dL la grupa de 16 ani și valoarea maximă de 259 mg/dL la grupa de vârstă de 13 ani.

Tabel 3-3. Valori medii și domenii limită ale triacilgliceridelor serice la eșantionul care a inclus fete

Grupe de vârstă (ani)	Număr subiecți		Valori analitice (mg/dL) $X \pm DS$	Domenii limită individuale (mg/dL)	
	Număr total (n_2)	Subiecți incluși în grupe			
		Date absolute			Date relative (%)
10	249	14	5,62	69,5 ± 35,6	30 - 143
11		33	13,25	78,2 ± 42,2	34 - 194
12		45	18,07	78,8 ± 48,7	33 - 177
13		26	10,44	87,7 ± 59,4	40 - 259
14		36	14,45	78,8 ± 45,0	32 - 251
15		36	14,45	73,7 ± 31,2	27 - 174
16		25	10,04	72,4 ± 34,3	25 - 174
17		16	6,42	91,5 ± 35,9	48 - 190
18		18	7,26	76,2 ± 32,5	41 - 164

În general, în studiile populaționale pentru subiecții care prezintă valori minime și maxime se recomandă efectuarea de investigații de laborator suplimentare.

Interpretarea rezultatelor din tabelul 3-3 atestă existența unei triacilgliceridemii medii mai scăzută, de 69,5 mg/dL la grupa de vârstă de 10 ani și mai crescută, adică 91,5 mg/dL la grupa de vârstă de 17 ani.

Valorile normale ale triacilgliceridemiei pentru fete sunt de 45-140 mg /dL. Valorile medii rezultate din analizele efectuate de noi se încadrează în limitele normalității. Mai crescută valoare medie s-a aflat la grupa de vârstă de 17 ani și cea mai scăzută la grupa de vârstă de 10 ani. Între grupele de vârstă de 10 și 13 ani se observă o creștere apoi o scădere până la grupa de vârstă de 16 ani.

Se poate constata că valorile individuale au fost depășite de subiecți încadrați aproape în toate grupele de vârstă, cu excepția grupei de 10 ani. Mari depășiri ale valorilor normale se constată la grupele de vârstă 13 și 14 ani.

În studiul întreprins de Schulpis și Karikas (1998), la un număr de 3785 fete din Grecia, s-a relevat pentru triacilgliceridemia un maxim la grupa de vârstă de 11 ani, care apoi a scăzut până la grupa de vârstă de 13 ani. Peste valori normale s-au găsit la grupa de vârstă de 10, urmat de aceea de 14 ani.

Triacilgliceridele (TAG) sunt, din punctul de vedere al compoziției, constituite dintr-un rest de gliceride și trei resturi de acizi grași saturați și/sau nesaturați. În cursul proceselor metabolice (deci în catabolism și anabolism) în organism se pot afla compuși intermediari, spre exemplu: diacilgliceride – conținând doar două resturi de acizi grași și monoacilgliceride – conținând doar un rest de acid gras.

Evaluarea statistică a datelor generale referitoare la triacilgliceridele serice, urmărindu-se media (\bar{X}) și deviația standard (DS), este prezentată în tabelul 3-4, prezentându-se separat pe sexe cu redarea diferenței mediilor (ΔX). Pentru a avea o imagine a diferențelor valorice de TAG dintre diversele grupe de vârstă, luate pe eșantioane de cercetare, s-a procedat și la determinarea diferențelor de medii ΔX .

Din evaluarea diferenței mediilor se remarcă valori mai scăzute la grupele de fete cu vârste de 11 ani și 18 ani. Valori mai crescute ale triacilgliceridemiei se disting la fete în cazul grupelor de vârstă de 13 și 14 ani în comparație cu valorile de triacilgliceridemie la băieți.

Cercetările efectuate de Gupta et al. (1994a) asupra profilului lipidic la un grup de copii, cu vârsta cuprinsă între 8-18 ani din India, au relevat valori ale TAG mai scăzute la băieți față de fete.

Date din literatura de specialitate (Tamier et al., 1981; Srinivasan et al., 1991; Williams et al., 2002) indică valori asemănătoare cu rezultatele obținute în studiile noastre, evidențiind totodată influența complexă a factorilor morfofiziologici în perioada de adolescență.

Tabel 3-4. Date comparative privind triacilgliceridemia la eșantioanele de băieți (n_1) și de fete (n_2) luate în studiu

Grupede vârstă (ani)	Eșantionul n_1 (băieți)		Eșantionul n_2 (fete)		ΔX ($X_1 - X_2$)
	n_1	$X_1 \pm DS$	n_2	$X_2 \pm DS$	
10	15	66,07 \pm 33,92	14	69,50 \pm 35,65	+ 3,43
11	23	86,09 \pm 37,25	33	78,21 \pm 42,28	- 7,88
12	29	76,72 \pm 44,14	45	78,82 \pm 48,77	+ 2,10
13	35	59,06 \pm 25,14	26	87,73 \pm 59,48	+ 28,77
14	30	52,83 \pm 23,88	36	78,86 \pm 45,03	+ 26,03
15	13	62,46 \pm 26,41	36	73,77 \pm 31,27	+ 11,31
16	18	67,56 \pm 23,33	25	72,48 \pm 34,32	+ 4,92
17	8	76,75 \pm 20,44	16	91,56 \pm 35,92	+ 14,81
18	3	80,33 \pm 46,48	18	76,22 \pm 32,52	- 4,11

Notă: n_1 – numărul de băieți luați în studiu; n_2 – numărul de fete luate în studiu

Aceste diferențe pot fi explicate pe baza modificărilor endocrine care survin în perioada de pubertate. Investigatiile noastre s-au limitat doar la probleme homeostazice ale metabolismului lipidic. Literatura de specialitate însă arată că perioada respectivă este marcată de modificări ale statusului hormonilor endocrini, de inițierea funcționării ciclului estral cu evidentă implicare a metabolismelor materiale (glucidic, lipidic, protidic, hidro-electrolitic).

3.6.1.2. Investigații asupra colesterolului

Procedând similar cu datele analitice referitoare la colesterol, obținute pentru eșantionul de băieți, s-a procedat la sistematizarea acestora în tabelul 3-5. Și în cazul acestora

s-au urmărit valori individuale țintă la diverse eșantioane. S-au aflat valori extreme la băieți de 83 respectiv 226,0 mg/dL.

Colesterolemia medie mai crescută s-a decelat la grupa de vârstă de 10 ani, iar mai scăzută la grupa de vârstă de 17 ani. Se observă, de asemenea, o scădere a valorilor medii la grupele de la vârsta de 10 la 13 ani, apoi o creștere până la grupa de vârstă de 15 ani.

Tabel 3-5. Valori medii și domenii limită ale colesterolemiei la eșantionul care a inclus băieți

Grupe de vârstă (ani)	Număr subiecți		Valori analitice (mg/dL) $\bar{X} \pm DS$	Domenii limită individuale (mg/dL)	
	Număr total (n_1)	Subiecți incluși în grupe			
		Date absolute			Date relative (%)
10	174	15	8,62	150,5 ± 24,7	118 - 214
11		23	13,22	143,6 ± 29,5	93 - 205
12		29	16,66	147,7 ± 32,3	90 - 226
13		35	20,11	131,7 ± 20,2	83 - 175
14		30	17,24	140,5 ± 29,2	88 - 217
15		13	7,47	147,8 ± 27,6	117 - 198
16		18	10,34	136,1 ± 24,3	91 - 179
17		8	4,60	122,4 ± 26,1	85 - 160
18		3	1,72	137,7 ± 16,2	119 - 149

Limitele normale ale colesterolemiei variază între 160–199 mg/dL. Având în vedere aceste limite putem observa că valorile individuale au fost depășite la grupele de vârstă de 10, 11, 12 și 14 ani.

Investigarea statusului colesterolemiei este importantă pentru considerentul că acest compus steroid (C_{27}) se află în sânge, bilă și în țesutul cerebral. În procesele metabolice este un precursor al biosintezei acizilor biliari, hormonilor steroizi și vitaminei D (Morrison et al., 1979; Pugliese et al., 1983). Concentrația colesterolului total în serul sanguin este asociată cu procesele metabolice și perturbarea acestora în anumite infecții și în bolile cardiovasculare (Steiner et al., 1991; Denke, 1995). Studii experimentale există și asupra animalelor de laborator (spre exemplu Gallo et al., 1984; Bok et al., 1999; Park et al., 2002)

În sânge, colesterolul este transportat de trei lipoproteine: lipoproteine cu densitate crescută (HDL-COL), lipoproteine cu densitate scăzută (LDL-COL) și lipoproteine cu densitate foarte scăzută (VLDL-COL). Lipoproteinele cu densitate scăzută (LDL și VLDL)

aparțin, de fapt, aceleiași categorii pot fi precipitate specific cu acid fosfotungstic (fosfowolframic) și cu magneziu. După separare prin centrifugare HDL rămân în supernatant. Determinarea HDL-COL se face din supernatantul limpede prin metoda spectrofotometrică.

Investigarea colesterolului și a fracțiunilor lipoproteice implicate în vehicularea acestuia încă de la vârstele juvenile și continuată la subiecții ajunși la starea adultă (Newman și Hulley, 1995; Paone et al., 1998; Rosenbaum și Liebel, 1998). Acest fapt este extrem de important pentru evaluarea dinamicii lipidelor serice și a posibilului risc pentru producerea dislipidemiilor (Anido et al., 1975; Anderson et al., 1987; Ensminger et al., 1995; Bok et al., 1999).

Rezultatele determinărilor analitice privind colesterolemia la eșantionul de fete sunt centralizate în tabelul 3-6.

Tabel 3-6. Valori medii și domenii limită ale colesterolemiei serice la eșantionul care a inclus fete

Grupe de vârstă (ani)	Număr subiecți		Valori analitice (mg/dL) $\bar{X} \pm DS$	Domenii limită individuale (mg/dL)	
	Număr total (n_2)	Subiecți incluși în grupe			
		Date absolute			Date relative (%)
10	249	14	5,62	159,1 ± 34,8	114 - 226
11		33	13,25	155,8 ± 30,1	94 - 211
12		45	18,07	155,2 ± 32,5	102 - 313
13		26	10,44	141,4 ± 24,0	102 - 211
14		36	14,45	138,1 ± 20,2	103 - 188
15		36	14,45	143,8 ± 29,1	93 - 219
16		25	10,04	157,4 ± 22,6	119 - 220
17		16	6,42	146,5 ± 32,2	97 - 224
18		18	7,26	146,0 ± 35,4	75 - 215

Se poate observa că valorile extreme la acest eșantion au fost de 75,0, respectiv 313,0 mg/dL. În astfel de situații este necesară evaluarea cazurilor particulare, îndeosebi a valorilor crescute și urmărirea datelor.

În lipidele din clasa steridelor se află ca și constituent structural colesterolul – colesteride serice. În sânge se poate decela colesterolul esterificat (de fapt în compoziția unei steride (v. Cap. 1.) și colesterolul liber – rezultat în urma eliberării din steride prin hidroliza enzimatică).

Colesterolemia – cantumul colesterolului în sânge în chimia clinică clasică se redă sub forma de “colesterol total”, colesterol esterificat, colesterol liber (notările uzuale pentru

colesterol se face prin litera C sau prin COL). Studiile asupra colesterolului – ca principal sterol prezent în organismul uman - se bazează pe investigații spectrofotometrice.

Alături de colesterolul seric, în cercetările de lipidologie efectuate la om se studiază conex și sterolii prezenți în alimente, care vor apar în organism prin aport exogen. Acești steroli sunt de origine vegetală (fitosteroli) și animală (zoosteroli). De asemenea, există și steroli proveniți de la micetri (micosteroli) care au importanță terapeutică.

Investigațiile întreprinse în cadrul acestei teze la grupele de băieți și fete (tabel 3-7) relevă faptul că există diferențe notabile între mediile (ΔX) grupelor luate în studiu. Se remarcă existente unor valori, în general, mai crescute la grupele de fete.

Tabel 3-7. Date comparative privind colesterolemia la eșantioanele de băieți (n_1) și de fete (n_2) luate în studiu

Grupe de vârstă (ani)	Eșantionul n_1 (băieți)		Eșantionul n_2 (fete)		ΔX ($X_1 - X_2$)
	n_1	$X_1 \pm DS$	n_2	$X_2 \pm DS$	
10	15	150,50 \pm 24,79	14	159,14 \pm 34,87	+ 8,64
11	23	143,60 \pm 29,54	33	155,82 \pm 30,10	+ 12,22
12	29	147,70 \pm 32,35	45	155,27 \pm 32,57	+ 7,57
13	35	131,70 \pm 20,29	26	141,42 \pm 24,08	+ 9,72
14	30	140,50 \pm 29,25	36	138,11 \pm 20,25	- 2,39
15	13	147,80 \pm 27,66	36	143,81 \pm 29,18	- 3,99
16	18	136,10 \pm 24,36	25	157,40 \pm 22,61	+ 21,30
17	8	122,40 \pm 26,12	16	146,56 \pm 32,25	+ 24,16
18	3	137,70 \pm 16,29	18	146,06 \pm 35,42	+ 8,36

Notă: n_1 – numărul total de băieți luați în studiu ; n_2 – numărul total de fete luate în studiu

În literatura de specialitate cercetările referitoare la hipercolesterolemie se discută și situațiile particulare în care se constată că există «hipercolesterolemie familială» și se impun măsuri terapeutice la vârsta copilăriei (McCrindle et al., 2002). Astfel de cazuri prezintă interes pentru erodopatologie – fiind în discuție o tulburare genetică în care există transmitere ereditară (Wiegman et al., 2004).

În acest cadru al problemei dislipidemiilor cu importanță genetică, studiată în eredopatologie, s-a urmărit relația între caracterul predictiv al obezității la copil pentru obezitatea la vârsta adultă și relația cu obezitatea parentală (Whitacker, 1997).

3.6.1.3. Modalități de exprimare și conversie a datelor analitice privind fracțiunile lipidice

Valorile fracțiunilor lipidice serice – în cazul studiat triacilgliceridele și colesterolul s-au exprimat conform uzanțelor clasice în mg/dL. În prezent se tinde tot mai mult a se utiliza exprimarea conform Sistemului Internațional (SI) de unități, adică în milimoli per litru, notat curent mmol/L sau mM/L.

În literatura de specialitate se fac precizări asupra faptului că în USA, India și în multe alte țări exprimarea se face în mg/dL. Spre deosebire de acestea, în marea majoritate a țărilor din Europa și în Australia exprimarea se face, fără a exista norme obligatorii, în mM/L (http://www.fatfreekitchen.com/cholesterol/cholesterol_units.html – 2006)

Pentru interpretarea datelor analitice obținute în laboratorul de chimie clinică, indiferent de modul de formulare, se utilizează un factor de conversie.

Triacilgliceridele – au un factor de conversie (f_{TAG}) care se calculează din raportul $1/0,01129 = 88,57$. Astfel, dacă se transformă mg/dL în mM/L se face diviziunea cu 88,57, deci :

$$[\text{mg/dL}] = \frac{1}{88,57} [\text{mM/L}]$$

iar în cazul în care se transformă în mM/L în mg/dL se va proceda la multiplicarea cu (f_{TAG}) , deci cu 88,57 astfel:

$$[\text{mM/L}] = 88,57 [\text{mg/dL}]$$

Dacă se va lua un exemplu concret, conform sugestiilor din literatura de specialitate se poate exemplifica următoarea conversie:

$$168 \text{ mg/dL} = \frac{1}{88,57} \times 168 = 1,9 \text{ mM/L}$$

Colesterolul – are, de asemenea, un factor de conversie specific (f_{COL}). Acesta rezultă din relația $1/0,02586 = 38,67$.

În cazul conversiei din mg/dL în mM/L se divide valoarea la 38,67, notându-se:

$$[\text{mg/dL}] = \frac{1}{38,67} [\text{mM/L}]$$

pentru situația când conversia pornește de la mM/L spre mg/dL se aplică relația de multiplicare:

$$[\text{mM/L}] = 38,67 [\text{mg/dL}]$$

Și în cazul colesterolului se va lua un caz concret pornind de la o valoare analitică determinată în mg/dL, deci:

$$205 \text{ mg/dL} = \frac{1}{38,67} \times 205 = 5,3 \text{ mM/L}$$

În toate situațiile date, de interes circumstanțial (investigarea unei afecțiuni) sau de interes științific (cercetări de lipidologie) se aplică astfel de calcule.

3.6.1.4. Evaluarea grafică a datelor comparative privind fracțiunile lipidice

Pentru a avea o imagine diagramatică mai expresivă a diferențelor dintre valorile triacilgliceridemie, la diverse vârste pentru cele două sexe, se prezintă și o histogramă (fig.3-4).

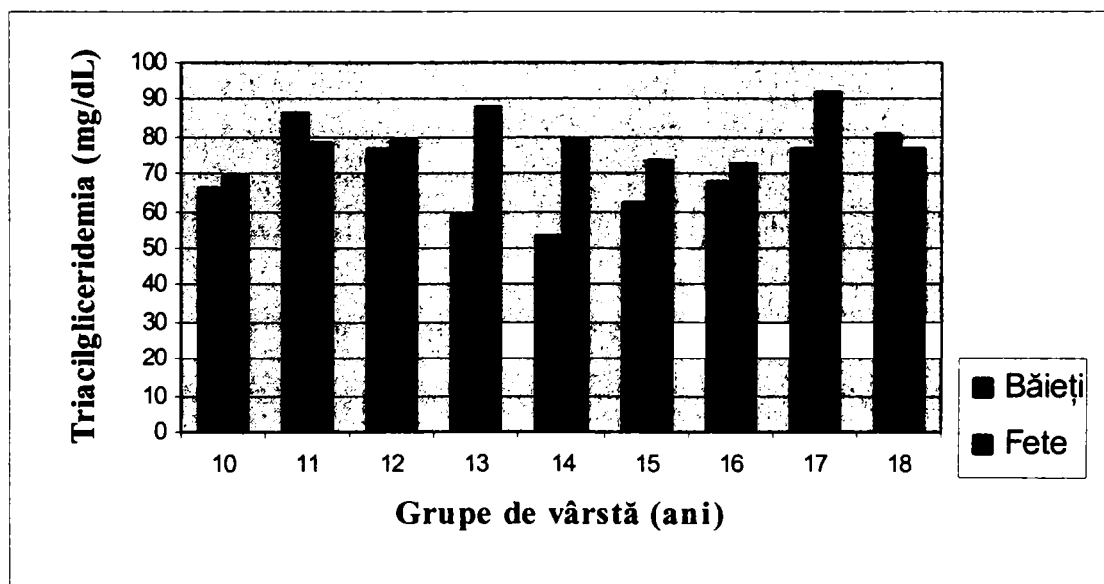


Fig. 3-4. Histograma variației triacilgliceridemie în funcție de eșantioane și grupe de vârstă

Evaluarea comparativă a datelor permite și o observare sinoptică a diferențelor, remarcându-se cele mai însemnate variații în cadrul grupelor de vârste, la fete de 13 ani – valori crescute cu + 28,77 mg/dL și la fete de 14 ani – valori crescute de + 26,03 mg/dL.

O comparație a acestor modificări se poate ilustra și prin vedere grafică. În acest sens prezentarea datelor referitoare la ambele fracțiuni lipidice, i.e. triacilgliceridemia și colesterolemia. Astfel de procedee sunt uzitate adesea în literatura de specialitate care urmărește modificările cronobiochimice cu caracter predictiv vizând inițial aspectele dishomeostazice și apoi posibile implicații în patologia biochimică.

Și în cazul colesterolului seric – aparținând lipidelor din subclasa steridelor s-au observat diferențe ΔX ale mediilor crescute în cazul grupelor de fete. Excepție au făcut grupele de vârstă de 14 și 15 ani. O explicație posibilă, abordată în literatura de specialitate, în conexiunea cu problemele de endocrinologie specifice perioadei de pubertate. Este cunoscut faptul că o parte din steridele existente în organism să intre în metabolismul hormonilor estrogeni (C_{18}) și ale hormonului progestativ (C_{21}).

O prelucrare a datelor analitice sub forma unei histograme relevă variațiile caracteristice ale colesterolemiei (fig. 3-5). Din aceasta se observă mai bine creșterile însemnate ale colesterolemiei la fete din grupa de vârstă 16 ani cu + 21,30 mg/dL, iar la 17 ani cu + 24,16 mg/dL.

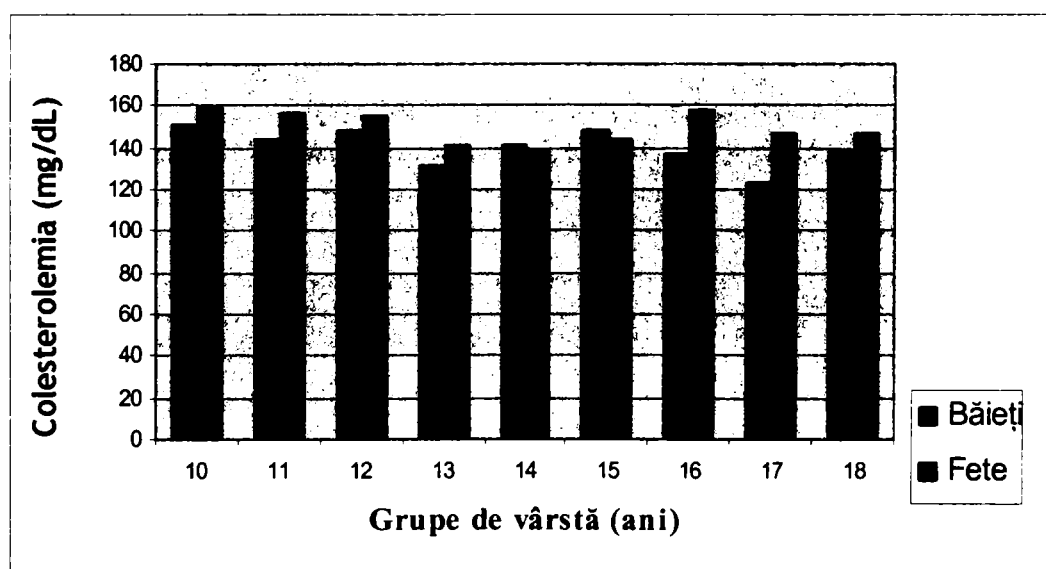


Fig. 3-5. Histograma variației colesterolemiei în funcție de eșantioane și grupe de vârstă

În fine, sintetizând datele referitoare la triacilgliceridemia eșantioanelor de băieți (n_1) și de fete (n_2) în evoluția pe grupe de vârstă, se pot remarca variațiile cronologice ale datelor analitice în funcție de specificul cronobiologic al grupelor de vârstă (fig. 3-6).

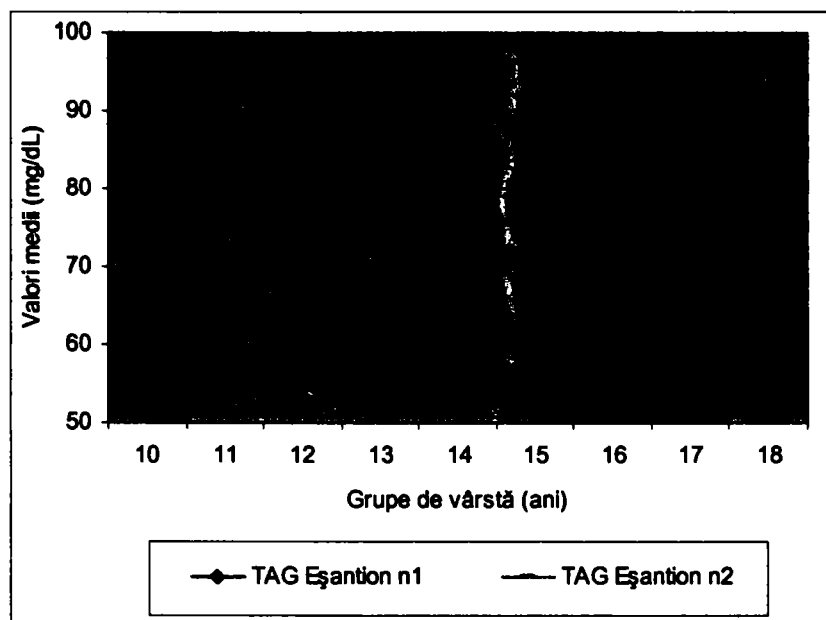


Fig. 3-6. Reprezentare diagramatică a valorilor medii ale triacilgliceridelor serice la subiecții între 10-18 ani din ambele eșantioane

Similar se poate proceda și în cazul colesterolului, urmărind valorile analitice calculate pe grupe de vârstă în cadrul ambelor eșantioane (fig.3-7)

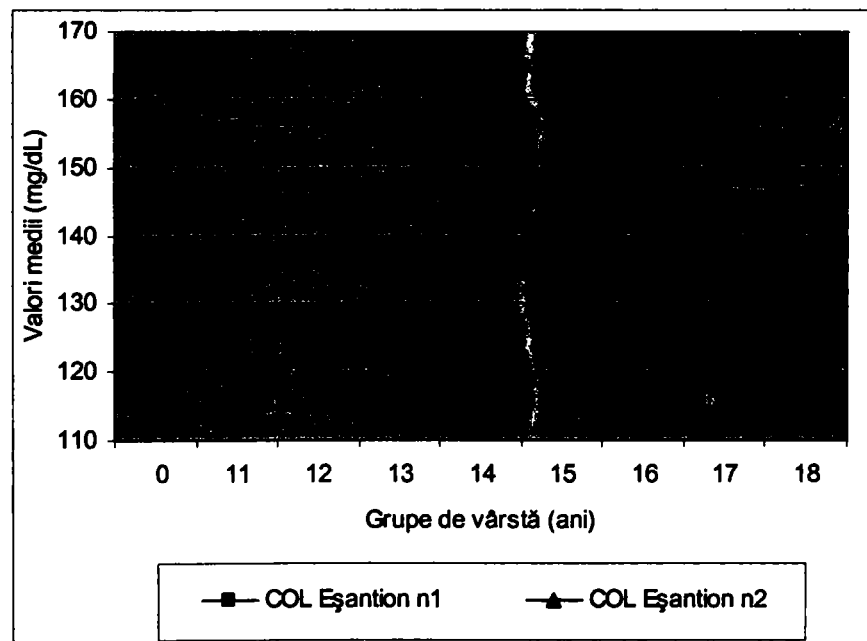


Fig. 3-7. Reprezentare diagramatică a valorilor medii ale colesterolului seric la subiecții între 10-18 ani din ambele eșantioane

Datele prezentate oferă o imagine privind distribuția lipidelor serice în raport cu dinamica specifică grupelor de vârstă studiate. Astfel de reprezentări sunt utilizate în literatura de specialitate pentru faptul că redau o imagine sinoptică asupra parametrilor biochimici luați în studiu.

3.6.2. INVESTIGAREA PRINCIPALELOR FRAȚIUNI LIPOPROTEINICE

În cazul fracțiunilor lipoproteinice cercetările întreprinse au urmărit HDL-colesterol (HDL-COL), care a fost determinat analitic și LDL-colesterol (LDL-COL) care, conform uzanțelor (din practica biochimiei și a chimiei clinice) se determină prin calcule.

Se reiterează însă, faptul că în laboratoarele de cercetare ale unor mari institute - care au în studiu teme de cercetare în domeniul lipidologiei și a bolilor cardiovasculare - se pot efectua determinări analitice de LDL-COL utilizând metode bazate pe separarea prin ultracentrifugare în tandem cu analiza spectrofotometrică.

Cu referire la lipoproteine se reamintește integrarea, general acceptată în literatura de specialitate, acestora în patru grupe: CM, VLDL, LDL, HDL. În biochimie problemele dishomeostaziei lipoproteinelor și a obezității au suscitât interes pentru consecințele patologice, dar și pentru predicția acestora (Hein, 1988; Javier et al., 1992; Gidding et al., 1996; Kimm et al., 1998; Frost și Havel, 2001).

O problemă de interes major este reprezentată de abordarea contextuală a perturbării homeostaziei biochimice a lipidelor și lipoproteinelor în relație cu modificările satusului hormonal în perioada adolescenței. În acest cadru se discută, spre exemplu, modificările induse în adolescență de maturitatea sexuală a subiecților (Berenson et al., 1981). În această perioadă se activează secreția hormonilor androgeni (testosteron, androsteron ș.a.) și estrogeni (estradiol, estriol ș.a.). Această activare a sintezei de hormoni influențează metabolismul lipidic în sensul catabolizării lipidelor de proveniență exogenă (alimente) și de proveniență endogenă. Deși există puține lucrări de referință în acest domeniu, se așteaptă ca cercetările corelate cu lipidologie – hormonologie (deci cu tentă endocrină) să fie extinse în viitor.

În continuare se vor discuta aspecte generale referitoare la fracțiunile lipoproteice luate în studiu și unele particularități în relație cu grupele de vârstă.

3.6.2.1. Investigații asupra HDL-colesterolului

O sistematizare a determinărilor efectuate asupra HDL-colesterolului la eșantionul de băieți (n_1), constituit din grupele de vârstă 10-18 ani, se prezintă în tabelul 3-8. În acest tabel, în afară de datele biostatistice, s-au inclus și domeniile de variație (limite minim-maxim) ale valorilor individuale în cadrul diverselor grupe de vârstă. Din tabel se poate constata că valorile minime la băieți sunt 32,0 mg/dL, iar maxime de 118,0 mg/dL. De asemenea, se remarcă faptul că pentru HDL-colesterol media statistică indică cele mai mari valori – 64,0 mg/dL la grupa de vârstă 18 ani.

Tabel 3-8. Valori medii și domenii limită ale HDL-colesterolemiei serice la eșantionul care a inclus băieți

Grupae de vârstă (ani)	Număr subiecți			Valori analitice (mg/dL) $X \pm DS$	Domenii limită individuale (mg/dL)
	Număr total (n_1)	Subiecți incluși în grupe			
		Date absolute	Date relative (%)		
10	174	15	8,62	53,8 ± 19,1	35 - 111
11		23	13,22	46,5 ± 7,3	35 - 62
12		29	16,66	46,5 ± 9,4	35 - 65
13		35	20,11	49,3 ± 11,6	32 - 94
14		30	17,24	54,5 ± 10,7	36 - 74
15		13	7,47	50,4 ± 6,8	39 - 60
16		18	10,34	53,5 ± 20,9	37 - 118
17		8	4,60	60,3 ± 8,8	50 - 79
18		3	1,72	64,0 ± 10,4	57 - 76

Dacă se urmăresc datele privind determinările de HDL-colesterol la eșantionul constituit din grupe de fete (tabel 3-9) se va remarca faptul că valorile individuale minime sunt de 28 mg/dL la grupa de 11 ani și respectiv 97 mg/dL la grupa de 15 ani.

Tabel 3-9. Valori medii și domenii limită ale HDL-colesterolemiei serice la eșantionul care a inclus fete

Grupe de vârstă (ani)	Număr subiecți			Valori analitice (mg/dL) $X \pm DS$	Domenii limită individuale (mg/dL)
	Număr total (n_2)	Incluși în grupe			
		Date absolute	Date relative (%)		
10	249	14	5,62	51,7 ± 12,2	32 - 74
11		33	13,25	47,9 ± 11,2	28 - 73
12		45	18,07	52,4 ± 11,5	29 - 81
13		26	10,44	51,3 ± 11,4	30 - 72
14		36	14,45	54,8 ± 12,7	34 - 85
15		36	14,45	57,2 ± 12,4	39 - 97
16		25	10,04	52,4 ± 8,0	37 - 71
17		16	6,42	59,9 ± 10,5	43 - 81
18		18	7,26	67,8 ± 13,5	51 - 87

În cadrul eșantionului de fete dacă se urmăresc valorile medii cu cel mai crescut quantum de HDL-COL, reprezentând 67,8 mg/dL, se întâlnesc la grupa de vârstă de 18 ani. Studiul analitic al HDL-COL prezintă importanță atât la vârstele tinere cât și la adult sau persoanele în vârstă înaintată.

Importanța investigațiilor la vârste tinere prezintă un aspect de excepție. Acesta rezidă în caracterul predictiv al informațiilor pe care le poate furniza pentru statusul biochimic al lipoproteinelor serice și posibila evoluție spre zone de interes ale patologiei biochimice.

Date referitoare la HDL-COL, comparative pentru cele două eșantioane, sunt prezentate în tabelul 3-10. Din acesta se remarcă faptul că valorile medii sunt destul de strânse, dar și faptul că marea majoritate a valorilor sunt crescute, fapt remarcat din diferențele mediilor ΔX la grupele de fete, excepție de la această observație se întâlnesc la grupele de vârste de 10, 16 și 17 ani.

Tabel 3-10. Date comparative privind concentrația HDL-colesterolului în serul sanguin la eșantioanele luate în cercetare

Grupe de vârstă (ani)	Eșantionul n_1 (băieți)		Eșantionul n_2 (fete)		ΔX ($X_2 - X_1$)
	n_1	$X_1 \pm DS$	n_1	$X_2 \pm DS$	
10	15	53,80 ± 19,15	14	51,78 ± 12,27	- 2,02
11	23	46,56 ± 7,35	33	47,94 ± 11,20	+ 1,38
12	29	46,58 ± 9,49	45	52,48 ± 11,58	+ 5,90
13	35	49,34 ± 11,61	26	51,38 ± 11,42	+ 2,04
14	30	54,50 ± 10,76	36	54,88 ± 12,71	+ 0,38
15	13	50,46 ± 6,85	36	57,25 ± 12,41	+ 6,79
16	18	53,50 ± 20,90	25	52,44 ± 8,00	- 1,06
17	8	60,37 ± 8,87	16	59,93 ± 10,56	- 0,44
18	3	64,0 ± 10,44	18	67,89 ± 13,57	+ 3,89

Notă: n_1 – numărul total de băieți luați în studiu; n_2 – numărul total de fete luate în studiu

Diferențe de medie cu valori crescute se întâlnesc la grupele de vârstă de 12 ani cu + 5,90 mg/dL și de 15 ani cu + 6,79 mg/dL.

Literatura de specialitate și date de ordin nutrițional și socio-profesional în cazurile studiate nu s-au aflat pentru a avea o explicație plauzibilă.

3.6.2.2. Investigații asupra LDL-colesterolului

În cazul stabilirii concentrației LDL-colesterolului există o metodă ultracentrifugală (Friedwald et al., 1972) prin care se procedează concomitent la determinarea trigliceridelor, colesterolului, HDL-colesterolului și LDL-colesterolului. Metoda a fost elaborată, și ulterior validată, în cadrul Institutului Național de Cardiologie și Pneumologie din Bethesda (USA) – Compartimentul de Boli Moleculare. Cu titlu informativ se menționează că ultracentrifugarea se face timp de 16 ore la 100.000 x g (folosindu-se o centrifugă cu SPINCD cu rotor special).

Metoda curentă de determinare a LDL-COL apelează însă la un procedeu de calcul aplicat pentru fiecare individ (Friedwald et al., 1972). Acesta se face după formula deja consacrată în domeniul lipidologiei (v.Cap.3.4.4).

S-au constituit, prin procedeul de calcul, nouă grupe de vârstă, similar cu restul fracțiunilor lipidice și lipoproteice (corespunzător vârstelor 10-18 ani).

Sistematizarea datelor obținute referitor la LDL-COL s-a făcut pe baza relației date de Friedwald et al. (1972). Această metodă de calcul a stat la baza aplicațiilor biostatistice pentru aflarea mediei și deviației standard. În tabelul 3-11 se prezintă valorile medii și domeniile limită la eșantionul care include grupele de băieți. Din datele individuale au fost reținute domeniile limită, acestea fiind pentru băieți 19,0 și 193,8 mg/dL la grupele de vârstă de 18 ani, respectiv 16 ani. Valoarea medie cea mai ridicată a LDL-COL a fost 109,94 mg/dL, întâlnindu-se la grupa de vârstă de 10 ani.

Tabel 3-11. Valori medii și domenii limită ale LDL-colesterolului seric la eșantionul care a cuprins băieți

Grupe de vârstă (ani)	Număr subiecți		Valori analitice calculate (mg/dL) $\bar{X} \pm DS$	Domenii limită individuale (mg/dL)	
	Număr total (n_1)	Subiecți incluși în grupe			
		Date absolute			Date relative (%)
10	174	15	8,62	109,94 ± 30,18	39,6 - 164,8
11		23	13,22	114,21 ± 33,02	59,8 - 160,4
12		29	16,66	116,48 ± 36,87	39,6 - 193,8
13		35	20,11	94,15 ± 22,38	50,0 - 121,8
14		30	17,24	96,56 ± 27,77	49,6 - 175,6
15		13	7,47	109,80 ± 29,73	83,6 - 150,2
16		18	10,34	96,06 ± 34,99	19,0 - 152,2
17		8	4,60	77,35 ± 23,30	43,4 - 111,2
18		3	1,72	89,73 ± 20,69	72,8 - 112,8

Valorile LDL-colesterolemiei calculate pentru eșantionul de fete sunt redată în tabelul 3-12. Se poate remarca faptul că minima se situează la 18,2 mg/dL pentru grupa de vârstă 15 ani, iar maxima la 283,6 mg-dL la grupa de vârstă de 12 ani .

Tabel 3-12. Valori medii și domenii limită ale LDL-colesterolului seric la eșantionul care a cuprins fete

Grupe de vârstă (ani)	Număr subiecți		Valori analitice calculate (mg/dL) $\bar{X} \pm DS$	Domenii limită individuale (mg/dL)	
	Număr total (n_2)	Incluși în grupe			
		Date absolute			Date relative (%)
10	249	14	8,62	121,26 ± 38,99	73,6 - 199,8
11		33	13,21	123,52 ± 32,81	62,2 - 216,2
12		45	16,66	118,54 ± 37,32	52,6 - 283,6
13		26	20,11	107,58 ± 29,02	69,0 - 173,4
14		36	17,24	98,99 ± 29,11	64,0 - 187,2
15		36	7,47	101,31 ± 32,03	18,2 - 181,4
16		25	10,34	119,00 ± 27,24	76,4 - 178,8
17		16	4,60	104,94±37,36	46,8 - 182,8
18		18	1,75	93,41±39,82	45,0 - 148,2

Problema determinării LDL-COL a constituit un subiect frecvent abordat în literatura de specialitate urmărind diversele aspecte, de la determinarea analitică directă prin metode fizico-chimice, la determinarea printr-o metodă indirectă bazată pe o formulă de calcul elaborată pe baza rezultatelor analitice evaluate comparativ (Friedwald et al., 1972).

Într-un amplu studiu asupra acestei probleme Nauck et al. (2002) arată că formula de calcul care apelează la valorile TAG, T-COL și HDL-COL pentru determinarea LDL-COL, elaborată de Friedwald et al. (1972) nu se poate aplica în cazul pacienților care au TAG peste 400 mg/dL. Având în vedere limitele acestei metode – bazate pe calcul – s-a sugerat utilizarea unor metode directe (Bachorik și Rosss, 1995). Se consideră că metodele directe utilizate până în prezent nu s-au pretat extinderii generalizate. În ultimii ani s-au introdus metode de o nouă generație, bazate pe omogenizare necesitând reactivi specifici pentru separarea și identificarea colesterolului asociat cu LDL, utilizarea procedeeleor automatizate etc.

Inițial s-a încercat determinarea LDL-COL prin metoda ultracentrifugării – s-a constatat însă că aceasta este dificilă, de durată iar lipoproteinele deosebit de labile se pot altera prin concentrația crescută a sărurilor utilizate și prin acțiunea forței centrifuge. De asemenea, sunt costisitoare și au reproductibilitate redusă. (Warnick et al., 2001).

S-a încercat apoi determinarea LDL-COL prin electroforeză – în această situație s-au utilizat diverse suporturi, efectuându-se electroforeza pe hârtie, pe acetat de celuloză, pe poliacrilamidă, pe gel de agaroză. Primele determinări s-au efectuat prin electroforeză pe gel de agaroză, separarea lipoproteinelor a fost urmată de precipitare cu polianioni și scanare densitometrică (Myers et al., 2000).

A urmat metoda enzimatică de determinare a colesterolului cu utilizarea colesterol-esterazei, colesterol-dehidrogenazei și a unui colorant tetrazolinic.

Ulterior s-a practicat, cu bune rezultate, utilizarea în tandem a metodelor electroforetică și enzimatică în care, enzimele au fost colesterol-esteraza și colesterol-oxidaza, iar colorantul a fost aminoetil-carbazol (Benlian et al., 2000). Această metodă (cu specific de tandem metodologic – expresie utilizată în chimia analitică și bioanalitică), s-a dovedit eficientă prin faptul că a grupat 68% din pacienți în mod corect, din punct de vedere al valorilor LDL-COL decelate. S-a asigurat o cuantificare mai sigură în cazul majorității tipurilor de hiperlipemie și hiperlipoproteinemie. Comparativ cu metodele instrumentale bazate pe procedee enzimatică și imunochimice, electroforeza se pretează mai bine utilizării în laboratoarele de cercetare specializate (chimie clinică, analitică biochimică, lipidologie etc.), decât în laboratoarele de rutină cu volum mare de analize.

În aceste condiții metoda de calcul elaborată de Friedwald et al. (1972) a fost acreditată ca o alternativă la metoda de ultracentrifugare. S-a propus, într-o primă fază, utilizarea formulei de calcul pentru studii epidemiologice, iar mai târziu s-a adoptat rapid ca metodă de calcul pentru determinările de rutină în laboratoarele clinice (acceptată fiind din considerente care au în vedere expeditivitatea și economicitatea). La elaborarea acestei metode au stat câteva principii de fond, între acestea se menționează faptul că fracțiunea lipoproteică VLDL transportă cea mai mare parte a TAG-circulante. Astfel se poate considera „VLDL-COL estimat” este reprezentat (destul de bine) prin totalul TAG decelat (se ia raportul TAG/5 în mg/dL). În final, LDL-COL se calculează din relația $TC - (HDL-COL + VLDL-COL \text{ esimat})$ exprimat, asemănător altor valori, prin mg/dL, ca unitate uzuală în laboratoarele clinice.

Deci, metoda de calcul Friedwald (1972), deși bine creditată în evaluarea LDL-COL, prezintă un dezavantaj major. Acest dezavantaj rezidă în faptul că există variabilitatea dată de cele trei măsurători. În această situație rezultatele reflectă impreciziile metodelor utilizate pentru determinarea TAG, TC, HDL-COL. În scopul limitării variabilității rezultatelor s-a propus adoptarea unei „metode automatizate” - general acreditate- pentru calculul HDL-COL, fapt care (în viziunea experților) ar diminua impreciziile în calculele efectuate. Toate aceste

observații vin să ateste faptul că formula Friedwald (1972) se pretează utilizării cu rezultate bune în evaluarea hiperlipoproteinemiei.

Prezentarea diverselor modalități de evaluare analitică și/sau prin calcul al valorii LDL-COL – este importantă pentru cercetările fundamentale și aplicative. S-a procedat la evidențierea acestora pentru a avea o imagine globală a interesului suscitată pentru problemele analitice din acest domeniu și pentru a evidenția menținerea și justificarea determinărilor prin calcul.

În această lucrare, așa cum s-a arătat, s-a aplicat metoda de calcul Friedwald et al. (1972) – justificată de aplicarea în numeroase lucrări și larga citare în literatura de specialitate. Datele obținute sunt evaluate comparativ, la eșantioanele de subiecți n_1 și n_2 luate în studiu. Tabelul 3-13 face legătura cu tabelele precedente, redând, totodată diferența mediilor ΔX dintre eșantioane.

Tabel 3-13. Date comparative privind concentrația LDL-colesterolului în serul sanguin la eșantioanele luate în cercetare

Grupe de vârstă (ani)	Eșantionul n_1 (băieți)		Eșantionul n_2 (fete)		ΔX ($X_2 - X_1$)
	n_1	$X_1 \pm DS$	n_2	$X_2 \pm DS$	
10	15	109,94 \pm 30,18	14	121,26 \pm 38,99	+ 11,32
11	23	114,21 \pm 33,02	33	123,52 \pm 32,81	+ 9,31
12	29	116,48 \pm 36,87	45	118,54 \pm 37,32	+ 2,06
13	35	94,15 \pm 22,38	26	107,58 \pm 29,02	+ 13,43
14	30	96,56 \pm 27,77	36	98,99 \pm 29,11	+ 2,43
15	13	109,80 \pm 29,73	36	101,31 \pm 32,03	- 8,49
16	18	96,06 \pm 34,99	25	119,00 \pm 27,24	+ 22,94
17	8	77,35 \pm 23,30	16	104,94 \pm 37,36	+ 27,59
18	3	89,73 \pm 20,69	18	93,41 \pm 39,82	+ 3,68

O diferență a mediilor (ΔX) relevă faptul că la toate grupele de vârstă, exceptând grupa de 15 ani, există valori mai crescute ale LDL-colesterolului la fete. Valori mai ridicate sunt la 16 ani cu + 22,94 mg/dL și la 17 ani cu + 27,59 mg/dL.

3.6.2.3. Modalități de exprimare și conversie a datelor analitice privind fracțiunile lipoproteice

Datele investigațiilor asupra fracțiunilor lipoproteice serice obținute prin determinări analitice – cazul HDL-colesterolului și prin calcule – cazul LDL-colesterolului expuse în prezenta teză sunt redată în mg/dL.

În biochimie, și pentru fracțiunile lipoproteice există factori de conversie. În cazul acestora însă factorul de conversie este identic (http://www.fatfreekitchen.com / cholesterol / cholesterol_units.html - 2006). Calculul acestuia se face, similar colesterolului, pornind de la raportul $1/0,02586=38,67$. Situația este explicabilă prin faptul că substanța (de bază) investigată este colesterolul.

Astfel, atât pentru HDL-COL, cât și pentru LDL-COL în cazul conversiei de la mM/L se aplică relația (prin diviziune), astfel:

$$[\text{mg/dL}] = \frac{1}{38,67} [\text{mM/L}]$$

iar pentru situația în care conversia pornește de la mM/L spre a se obține mg/dL se face multiplicarea:

$$[\text{mM/L}] = 38,67 [\text{mg/dL}]$$

Și în cazul lipoproteinelor se vor da exemple de calcul, din literatura de specialitate, pentru:

$$\text{HDL-COL} \quad 35 \text{ mg/dL} = \frac{1}{38,67} \times 35 = 0,9 \text{ mM/L}$$

$$\text{LDL-COL} \quad 135 \text{ mg/dL} = \frac{1}{38,67} \times 135 = 3,5 \text{ mM/L}$$

Astfel de situații în care se impune conversia datelor sunt necesare din punct de vedere clinic – terapeutic sau pentru cercetarea științifică în domeniul lipidologiei clinice – ca un domeniu al biochimiei.

3.6.2.4. Evaluarea grafică a datelor comparative privind fracțiunile lipoproteinice

Și în cazul HDL-COL au fost efectuate histograme (fig. 3-8) pentru a avea o imagine relevantă și ușor de evaluat a diferențelor între eșantioanele luate în studiu.

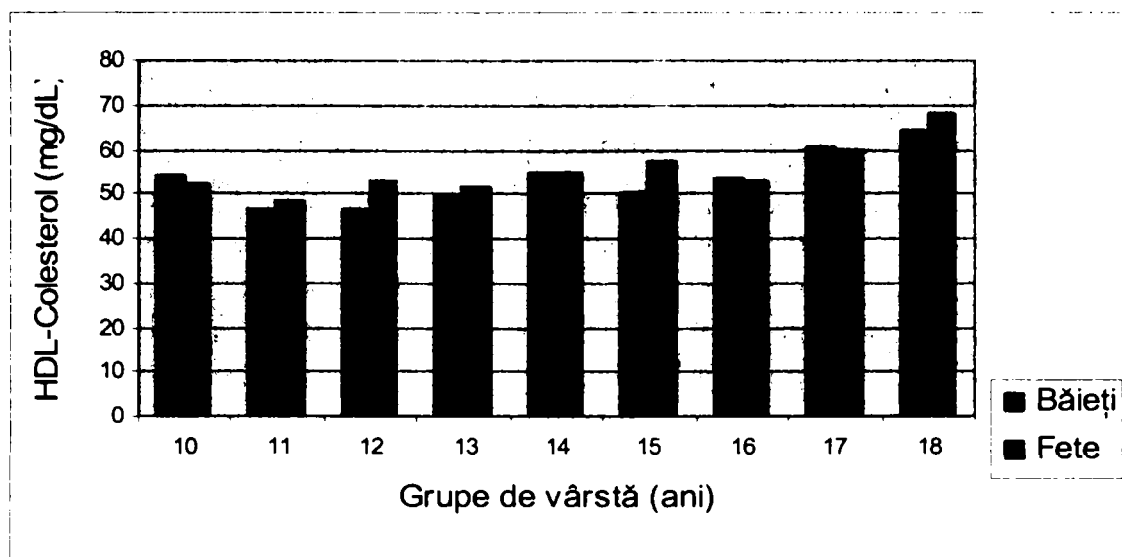


Fig.3-8. Histograma variației HDL-colesterolului seric în funcție de eșantioane și grupe de vârstă

Pentru a avea o imagine mai reprezentativă s-a procedat la compararea datelor obținute la cele două eșantioane studiate. Rezultatele sunt expuse în fig.3-9 care prezintă histograma valorilor caracteristice pentru fiecare grupă de vârstă atât la băieți cât și la fete.

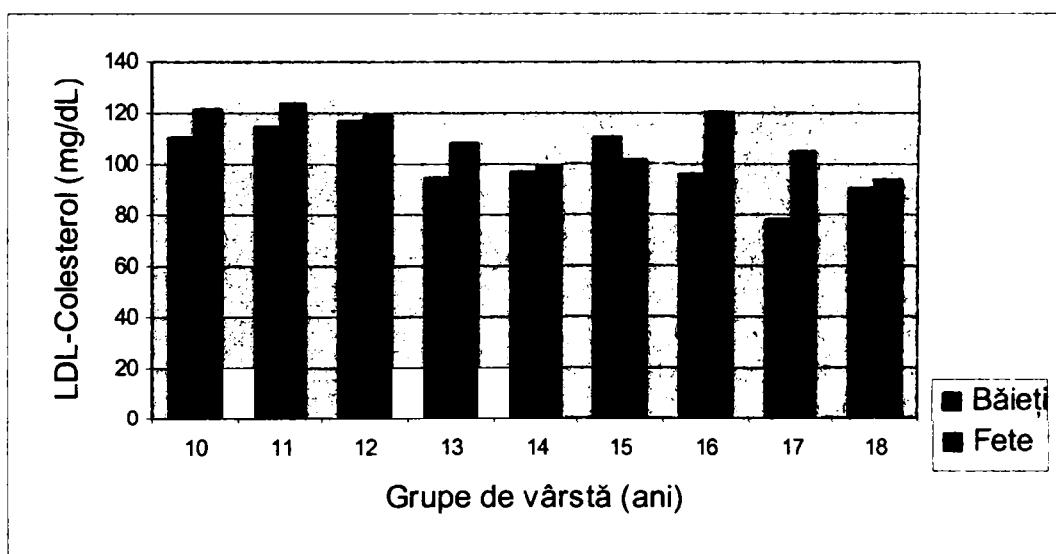


Fig. 3-9. Histograma variației LDL-colesterolului seric în funcție de eșantioane și grupe de vârstă

Așa cum s-a arătat, valorile pentru LDL-COL se pot afla analitic, prin metode de ultracentrifugare sau prin calcul.

O modalitate de exprimare a rezultatelor – uzitate în literatura de specialitate referitoare la biochimia lipidelor și chimia clinică – pornește de la necesitatea evidențierii grafice a variațiilor în funcție de vârste. În studiile de mare anvergură astfel de diagrame

acoperă ani de zile sau chiar decade de viață urmărind aspecte legate de investigații biochimice ale aparatului cardiovascular, aparatului reno-urinar, sistemului osos etc.

În cazul cercetărilor expuse în această lucrare se prezintă date referitoare la lipoproteine în perioada de vârstă 10-18 ani la eșantioanele de băieți (n_1) și fete (n_2) luate în cercetare.

O modalitate de exprimare a rezultatelor – uzitate în literatura de specialitate referitoare la biochimia lipidelor și chimia clinică – pornește de la necesitatea evidențierii grafice a variațiilor (care exprimă modificările homeostazice) în funcție de vârstă. În cercetările științifice de mare anvergură, în care se urmăresc aspecte de cronobiochimie și cronofiziologie în relație cu patologia, astfel de diagrame acoperă ani de zile sau chiar decade de viață. Astfel de cercetări au în vedere aspecte legate de investigații biochimice ale aparatului cardiovascular, aparatului reno-urinar, sistemului osos etc.

Cercetările prezentate în această lucrare oferă informații referitoare la lipoproteine la eșantioanele de băieți și fete care, au făcut obiectul cercetărilor. Pentru determinările efectuate asupra HDL-COL datele sistematizate pentru ambele eșantioane pe grupe de vârstă sunt redată în fig.3-10.

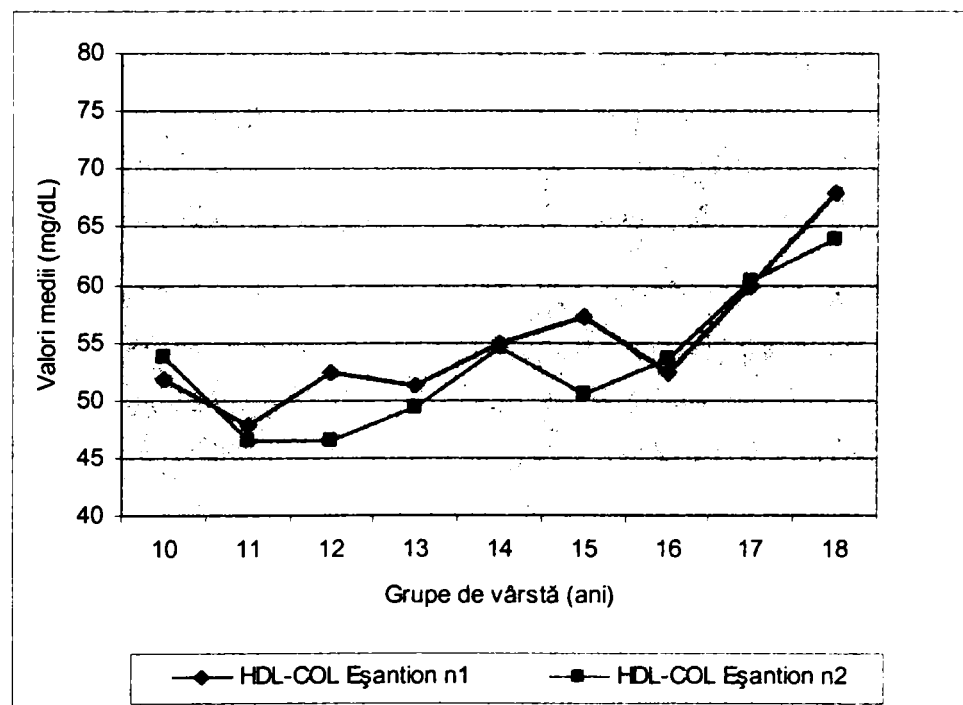


Fig.3-10. Reprezentare diagramatică a valorilor medii ale HDL-colesterolului seric la subiecții din eșantioanele n_1 și n_2

Evaluarea prin reprezentare grafică a rezultatelor privitoare la LDL-COL, aspectele comparative, dintre eșantioanele de băieți și fete și între grupele de vârstă în cadrul

eșantioanelor se redau în fig.3-11. Se reamintește faptul că valorile cercetărilor experimentale asupra LDL-COL s-au determinat prin calcul.

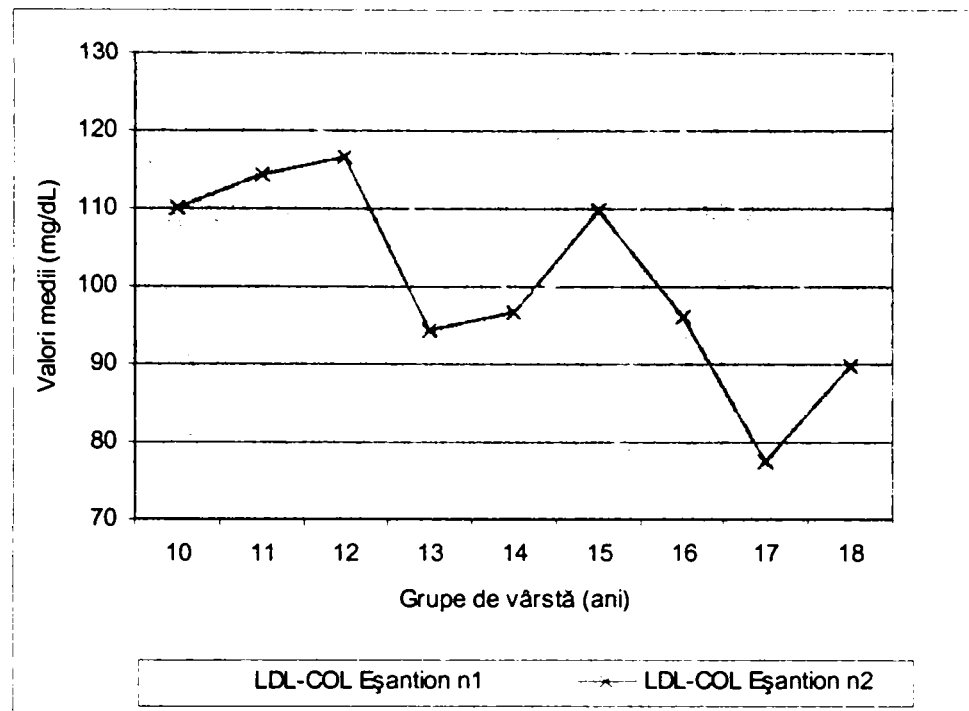


Fig.3-11. Reprezentarea diagramatică a valorilor medii ale LDL-colesterolului seric la subiecții din eșantioanele n_1 și n_2

Remarcabil este faptul că studii asupra lipidelor și lipoproteinelor serice au fost efectuate în diverse părți ale globului.

Astfel, un studiu efectuat în Taiwan de Liu et al. (1999) a relevat faptul că 16-18% din tineri care au completat un chestionar la începutul cercetării, au părinți care suferă de boli cardiovasculare sau hiperlipidemie. Studiul a cuprins un număr de 4183 tineri, la care fost recoltate probe de sânge pentru determinarea colesterolemiei totale, triacilgliceridemiei (TAG), HDL-colesterolemiei și LDL-colesterolemiei. Această din urmă valoare a fost obținută prin metoda de calcul Friedwald (1972).

Valoarea medie a TC a fost de 163,2 mg/dL, iar 9,6% din cei analizați au avut TC peste 200 mg/dL. Valoarea medie pentru TAG a fost de 76,2 mg/dL; pentru LDL-C a fost de 88,2 mg/dL și pentru LDL-COL de 59,8 mg/dL.

De asemenea, s-a constatat că tinerii obezi au avut valori mai mari ale parametrilor sanguini determinați decât cei cu greutate normală. Autorii au ajuns la concluzia că prin screening al profilului lipidic numai la copii și tinerii cu părinți, bunici suferinzi de boli cardiovasculare sau hiperlipidemii, 75% dintre copii depistați cu niveluri lipidice serice crescute ar fi ignorate.

În ultima perioadă tot mai multe investigații sunt canalizate asupra determinării non-HDL-colesterolemiei. Non-HDL colesterolul (colesterol total minus HDL colesterol), este considerat un mijloc de screening mai bun decât LDL-colesterolul pentru depistarea riscului de boală coronariană deoarece include toate clasele de lipoproteine aterogene. Asemenea date există doar pentru adulți, fiind absente la copiii și tineri.

Un studiu efectuat de Srinivasan et al. (2002) pe un eșantion de 2843 subiecți, cu vârste între 5-17 ani, a urmărit într-o primă etapă: înălțimea, greutatea și circumferința taliei, pe baza cărora s-a calculat indexul de masă corporală - BMI. Apoi s-au efectuat analize de laborator : colesterolemia totală (CT), triacigliceridemia (TAG), HDL-colesterolemia. S-a calculat printr-o metodă computerizată valorile non-HDL-colesterolemiei.

Rezultatele au relevat valori ale non-HDL-colesterolemiei mai mari la sexul feminin și, mai ales la vârstele mai mici (5-11 ani).

Valorile non-HDL colesterolemia s-au corelat mai bine cu TAG și pot fi invers asociate cu HDL-colesterolul. S-a stabilit o corelație invers proporțională cu vârsta, asociere pozitivă cu BMI. Mărimea corelației cu TAG a fost mai mare pentru non-HDL-colesterol față de LDL-colesterol. Este în relație de invers proporționalitate cu HDL-colesterol.

În scopul evaluării rezultatelor provenite din determinările analitice efectuate se poate proceda la o comparație cu datele acceptate în literatură de specialitate ca valori de referință. În acest scop s-a apelat la datele comunicate de

Institutul Național de Cardiologie, Pulmonologie și Hematologie (National Heart, Lung and Blood Institute - NHLBI) din SUA (date compilate de către Epstein et al., 1990; Belcher et al. 1993; Bergstrom et al., 1995). Cu ajutorul acestor date s-a întocmit un Ghid al valorilor recomandate pentru colesterol total și LDL-colesterol seric la copiii și adolescenții între 2 și 19 ani care provin din familii cu hipercolesterolemie sau boli cardiace, redate în tabelul 3-14.

Tabel 3-14. Valori medii acreditate pentru colesterol total și LDL-colesterol (conform recomandărilor NHLBI)

Specificare	Colesterol total (mg/dL)	LDL-colesterol (mg/dL)
Aceptabil	sub 170	sub 110
La limită	170 - 199	110 - 129
Crescut	≥ 200	≥ 130

Conform acestui Ghid copii și adolescenții din grupa de risc trebuie examinați periodic de către medicul de familie și trebuie să efectueze periodic analize referitoare al profilul lipidic în vederea reducerii riscului de dezvoltare de boli cardiovasculare în perioada de adult.

3.7. SPECIFICUL BIOCHIMIC AL HOMEOSTAZIEI ȘI HETEROSTAZIEI ÎN CAZUL FRAȚIUNILOR LIPIDICE ȘI LIPOPROTEINICE

În relație cu homeostazia se cunoaște faptul că aceasta reprezintă una din caracteristicile dinamice ale sistemelor biologice și are rolul de-a asigura menținerea stabilității mediului intern prin interacții biochimice de reglare (sau autoreglare) care, se realizează conform unor mecanisme „programate genetic”.

Prin funcționalitatea mecanismelor amintite se asigură echilibrul intrinsec al oricărui sistem. În sistemele biologice acest echilibru se realizează prin interacțiile biochimice specifice proceselor metabolice. În cercetările întreprinse în cadrul acestei teze sunt vizate procesele catabolice și anabolice specifice (în principal) metabolismului lipidic. Interacțiile biochimice specifice proceselor metabolice asigură menținerea „statusului homeostaziei biochimice”, a așa numitului mediu intern. Cuantificarea statusului homeostaziei biochimice se stabilește prin metodele specifice chimiei clinice. Astfel, organismul viu tinde să mențină constante diversele valori biochimice ale compușilor chimici din sânge (numite uneori impropriu „parametrii biochimici” sau “constante biochimice”). Astfel, se poate vorbi de homeostazie biochimică pentru: glicemia, acidul lactic etc. - în cazul metabolismului glucidic; lipemia, colesterolemia, triacilgliceridemia, HDL-colesterol, LDL-colesterol, acizi grași liberi etc. - în cazul metabolismului lipidic; proteinemia, albuminemia, globulinemia - în cazul metabolismului protidic; electrolitemia (calcemia, magneziemia, sideremia, cupremia) – în cazul metabolismului hidroelectrolitic ș.a.m.d.

O problemă aparte a homeostaziei este aceea referitoare la termogeneză. În acest caz se vorbește despre “homeostazia termică” – legată, în special, de metabolismul lipidic și glucidic.

Un fenomen special este reprezentat însă de *heterostazie* (Selye, 1967 – citat de Pora, 1981), care completează și fundamentează unele aspecte particulare ale homeostaziei.

Studiul heterostaziei implică acceptarea noțiunii de „*echilibru anormal*” care, apare în condiții limită impuse de existența unor factori potențial – patogeni. O astfel de situație se întâlnește în cazul dislipidemiilor și dislipoproteinemiilor.

În condiții normale, la subiecți există un status caracterizat prin homeostazia biochimică. Dacă, în timp, se creează condițiile apariției unor injurii biochimice se produc primele modificări ale „constantelor biochimice” sanguine. Aceste modificări sunt secondate de tulburări fiziopatologice la subiecții luați în studiu, fapt care conduce la un nou status, caracterizat prin așa numita „heterostazie biochimică”. Heterostazia biochimică nu este însoțită de tulburări morfofiziologice manifeste.

O astfel de situație se distinge și la investigarea unora din subiecții aparținând eșantioanelor n_1 (băieți) și n_2 (fete) care, includ adolescenți cu vârste de 10-18 ani. Pentru o redusă parte din aceștia s-au decelat valori caracteristice unui status care se definește prin „heterostazia biochimică”.

În fine, în cadrul cercetărilor existente în acest domeniu prin care au fost urmărite grupe de subiecți pe perioade mai îndelungate de timp (Becque et al., 1988; Epstein et al., 1994; Boulton et al., 1995 ; Pi-Sunyer, 1995; Manios, 2004) s-a arătat că această stare poate fi readusă la normal prin măsuri dietetice severe și, în stările incipiente, prin perioade limitate de administrare a unor medicamente.

În numeroase cazuri însă, în lipsa unor măsuri eficiente, se ajunge la stadiul de dishomeostazie. Deși termenul poate fi extins de la aspectele biochimice la acelea fiziologice și morfologice, utilizarea curentă este limitată la „constante biochimice” sanguine (deci, se limitează la dishomeostazia biochimică). În cazul de față, dishomeostazia biochimică se „traduce” prin hiperlipemie și hiperlipoproteinemie.

Pentru evaluarea datelor în această teză s-a procedat și la calcularea indexului de masă corporală pe baza datelor somatometrice, confirmându-se că evaluarea relației BMI-vârstă, a diferențelor dintre subiecți bazată pe criteriul percentilelor (v.Cap.4) este corelabilă cu datele obținute prin metodele chimiei clinice referitoare la lipide și lipoproteine.

Deci, încercând un paralelism de la statusul normal la statusul patologic din punct de vedere biochimic se pot distinge homeostazia – heterostazia – dishomeostazia care, pot afecta lipidele sanguine (triacilgliceridemia, colesterolemia) și/sau lipoproteinele sanguine (HDL-colesterolemia, LDL-colesterolemia). Tranzitul “stadiilor” homeostazie, heterostazie și dishomeostazie reflectă – în cazul studiat – și, în general, în biochimie și patobiochimie, trecerea de la normal la patologic, semnificând patologic în această teză, apariția bolilor cardiovasculare și cerebrovasculare (care fac obiectul medicinei interne). Lucrarea de față și-a propus doar abordarea aspectelor de interes biochimic și patobiochimic care preced instalarea afecțiunilor amintite.

3.8. BAZELE BIOCHIMICE ALE ESTIMĂRII STĂRILOR DE HIPERLIPIDEMIE ȘI HIPERLIPOPROTEINEMIE

Cu referire la lipide și lipoproteine există studii întreprinse asupra persoanelor adulte, interesând biochimia și fiziologia și asupra persoanelor în vârstă înaintată, interesând patobiochimia și fiziopatologia.

Astfel de studii au fundamentat – sub aspect biochimic – clasificarea dislipidemiilor și au stat la baza instituirii conceptelor de hiperlipidemie și hiperlipoproteinemie.

3.8.1. CARACTERISTICILE HOMEOSTAZIEI BIOCHIMICE ÎN STĂRILE DE HIPERLIPIDEMIE ȘI HIPERLIPOPROTEINEMIE

Conceptul tulburărilor de transport al lipidelor și lipoproteinelor, materializate sub forma celor 5 tipuri de hiperlipoproteinemii (HLP) au fost descrise de Fredrickson et al. (1967). Această clasificare a produs în lumea științifică a biochimiștilor și patologiștilor (patologilor) reacții extrem de nuanțate, mergând de la acceptare totală, până la eludare. Sub raport teoretic și aplicativ însă această clasificare a fost preluată încă din anii 1968.

În general se discută despre stările de hiperlipidemie (HL) și hiperlipoproteinemie (HLP). Pentru a tranșa creator preluarea “noilor achiziții științifice” în acest domeniu, o comisie de experți ai WHO s-a întrunit la Geneva, în luna iunie 1970. Comisia a inclus o parte din elita mondială a lipidologilor, cu scopul deliberat de-a ajunge la stabilirea unei clasificări unitare a stărilor HL-HLP (Buletin WHO, 1970).

Se convine – la această reuniune internațională - asupra unei terminologii și clasificări care au la bază conceptul HLP propus de Fredrickson în 1967. Se reproduc, în continuare, unele prevederi considerate esențiale prevăzute în «Memorandumul» elaborat în 1970, deoarece s-a dovedit a avea o solidă bază biochimică și o mare aplicabilitate practică. Se confirmă, astfel, aserțiunea mai veche a lui Levine: “Clasificarea de dragul clasificării este desigur semn de pedanterie, dar dacă scopul ei este să atragă atenția asupra diviziunilor naturale ale unui domeniu de cercetare și să le fixeze în minte, ea poate fi iertată și se poate dovedi chiar utilă”.

Necesitatea adoptării unui sistem unitar de clasificare a stărilor HL-HLP apare expusă în preambulul «Memorandumului», menționându-se că: a) din punct de vedere diagnostic - reprezintă o clasificare unitară este un ajutor în diagnostic și evaluarea prognosticului; b) din punct de vedere terapeutic - este o indicație mai rațională de tratament și apreciere a eficacității sale; c) din punct de vedere epidemiologic - oferă o bază de cercetare și apreciere a penetrației tulburărilor metabolismului lipidic în diferite grupuri de populație; d) din punct de

vedere genetic - permite o mai bună cunoaștere a mutațiilor responsabile de HLP și a modului lor de transmisie; e) din punct de vedere etiologic - oferă o bază mai rațională pentru evidențierea diferitelor cauze și mecanisme ale HLP.

Aceste necesități trebuie corelate cu marele imperativ al studiilor de lipidologie interesând biochimia statică și dinamică a lipidelor și implicațiile acesteia în patobiochimie și patologia clinică umană. În cercetările experimentale și clinice se urmărește legătura intimă între: lipide-lipoproteine-ateroscleroză, filiație dovedită indubitabil pe mai multe planuri: biochimic, clinic, experimental, și epidemiologic.

Studii de anvergură asupra problemei dislipidemiei și dislipoproteinemiei și implicațiilor patologice ale acestora au fost efectuate în numeroase țări de pe diverse continente (Frerichs et al., 1976; Puska et al., 1981; Viikari et al., 1987; Sorlie et al., 1990; Badruddin et al., 1994; Gidding et al., 1995; Raitakari et al., 1997; Bhatnagar, 1998; Suthutvoravut et al., 1998; Lin et al., 1999; Azizi et al., 2001; Monge-Rojas, 2001; Kuzawa et al., 2002; Luo, 2002; Nauck et al., 2002; Ogden et al., 2002; Zhijie et al., 2002; Iwata et al., 2003; Minh et al., 2003; Ji et al., 2004).

3.8.2. CLASIFICAREA ÎN ACCEPȚIA FREDRICKSON

Baza biochimică a clasificării WHO este oferită de preluarea conceptelor elaborate de Fredrickson et al. (1967). Asupra tulburărilor transportului plasmatic al lipidelor sub forma lipoproteinelor. În acest context, definiția completă a hiperlipemiei (HL) și hiperlipoproteinemiei (HLP) se face astfel:

A. Hiperlipidemia. Creșterea concentrației serice a triglicerideor și colesterolului este etapa inițială în caracterizarea dishomeostaziei biochimice în vederea stabilirii unui diagnostic atât a stărilor de hiperlipidemie, cât și a stărilor de hiperlipoproteinemie. Dată fiind corespondența lipide-lipoproteine serice sistematizarea stărilor de HL se face luând în considerare următoarele observații:

- creșterea concentrației colesterolului seric, alături de o trigliceridemie normală, corespunde denumirii clasice de „hipercolesterolemie pură“, având ca substrat hiperbeta-lipoproteinemia (hiper LDL);

- creșterea izolată a trigliceridelor serice corespunde „hiperchilomicronemiei pure“ sau hiperprebeta-lipoproteinemie (hiper VLDL);

- exacerbarea concomitentă a colesterolului și trigliceridelor serice poate fi întâlnită în toate formele de HLP, cu excepția hiperbeta-lipoproteinemiei pure.

Uneori, se utilizează calcularea raportului colesterol / trigliceride sau colesterol fosfolipide (pentru aprecierea alfa-lipoproteinelor), dar, fără o valoare diagnostică precisă.

B. Hiperlipoproteinemia. Determinarea tipului de lipoproteinemie serică se află la baza clasificării stărilor de HLP, alături de determinarea lipidelor serice. Inițial, Fredrickson et al. (1967) au propus clasificarea hiperlipoproteinemii în 5 tipuri, numerotate și notate prin cifre romane, i.e. tipurile I -V. Ulterior, în 1970, s-a elaborat „Memorandumul WHO” prin care s-a procedat la subdivizarea tipului II în două tipuri (subtipuri) denumite curent tipul II a, respectiv II b. Astfel, în final prin memorandumul amintit a rezultat existența, în total, a șase tipuri de HLP (tabel 3-15).

Tabel 3-15. Tipurile majore de hiperlipoproteinemii (Memorandumul WHO, 1970)

Tipul de hiperlipoproteinemie	Chilomicroni	LDL β-Lp	VLDL Pre-β-Lp	β VLDL β-Lp-flotante
I	+			
II a		+		
II b		+	+	
III				+
IV			+	
V	+		+	

O evaluare sumară a tipurilor de hiperlipoproteinemii cu menționarea modificărilor homeostaziei biochimice evidențiază:

- Tipul I – caracterizat prin prezența chilomicronilor alături de VLDL normale sau discret crescute.
- Tipul II a – se caracterizează prin creșterea LDL, VLDL sunt în concentrație normală.
- Tipul II b – se caracterizează prin creșterea concentrației atât a LDL, cât și a VLDL.
- Tipul III – caracterizat prin prezența unei VLDL anormale, cu conținut crescut de colesterol și migrare electroforetică anormală, de unde denumirea de „beta-VLDL”, „beta-lipoproteina flotantă” sau LDL.
- Tipul IV – definit prin creșterea VLDL, LDL în concentrație normală, chilomicronii fiind absenți.
- Tipul V – caracterizat prin creșterea VLDL în prezența chilomicronilor.

Se precizează însă, că acestea sunt numai criteriile de *clasificare* ale HLP – bazate pe datele analitice obținute în laboratorul de chimie clinică, care nu trebuie confundate cu

criteriile de diagnostic – care includ și aspectele morfologice și fiziologice de interes clinic ale tipurilor de HLP.

Se impună, în acest sens, câteva precizări de interes biochimic și medical:

- tipurile de HLP, nu numai că nu sunt echivalente cu o singură boală, dar fiecare din acestea are mai multe cauze;
- multe din formele de HL (cca 95%) au corespondență în HLP;
- unele teste au valoare diagnostică pentru definirea unui tip HLP;
- tipul lipoproteinic variază intraindividual în funcție de tratament, factorii de mediu etc.;
- determinarea colesterolului și trigliceridelor serice în vederea diagnosticului de HL, etapă preliminară a diagnosticului și clasificării HLP, necesită standardizarea metodologică;
- clasificarea de mai sus este provizorie; se așteaptă ca, prin îmbunătățirea mijloacelor de investigare a lipidelor și mai ales a lipoproteinelor plasmatiche, să asistăm la subdivizarea unor tipuri majore de HLP.

În sprijinul acestei ultime observații prezentăm discuțiile care au avut loc la întrunirea de la Geneva asupra divizării tipului II. Fără îndoială că aceasta era o necesitate. Este un adevărat mister cum o astfel de particularitate a „scăpat“ clasificării originale a lui Fredrickson. Controversele s-au ivit în momentul translației acestui tip de HL mixtă în HLP. Existau două alternative:

- defalcarea tipului II general în noile tipuri: II a și II b (în accepția generală se evită denumirea de subtipuri);
- sau introducerea tipului VI, format din sumarea tipului II (hiperbeta-LP) + tipul IV (hiperprebeta-LP), asemănător cu tipul V (formată din tipul I + tipul IV). Această ultimă idee, propusă de Carlson, a fost abandonată în cele din urmă în favoarea primei alternative. În sprijinul acestei atitudini se aduce existența la membrii aceleiași familii atât a „HLP II a“, cât și „II b“, dovedindu-se astfel o posibilă filiație între cele două tipuri. Argumentația nu ni se pare fără echivoc, deoarece un fenomen asemănător este diferit interpretat în cazul HLP tip IV și tip V, ambele posibil de evidențiat în cadrul aceleiași familii, având o filiație patogenică certă și care își păstrează „independența tipologică“.

Brown et al. (1973) au reluat problema tipurilor de dislipidemie, propunând introducerea HLP tip VI corespunzătoare unor forme de HL mixtă. Ideea se susține prin prezența HL crescută, în asociație cu complicațiile cardiovasculare, motiv temeinic pentru a se individualiza. Carlson (de

data aceasta partizan al memorandumului) răspunde prompt printr-o scrisoare către cititori în care, pe lângă înalta spiritualitate emanată încă din titlul cu aluzie Shakespeariană („II b or not II b“), conchide astfel într-un final de mare efect: „...The answer to the question“ II b or not II b“ is that II b is still to be“. Deoarece este vorba de o schimbare de nomenclatură, fără a avea ca substrat afectarea conținutului noțiunii, credem că această controversă, cu evidentă notă semantică, este inutilă, cel puțin în momentul actual, în care clasificare WHO – Fredrickson rezistă solicitărilor practice, diagnostice, epidemiologice și terapeutice.

În clasificarea stărilor HL – HLP, datele clinice au o valoare „adițională“. Această precizare subliniază, indirect importanța investigațiilor de chimie clinică și biochimie în evaluarea dislipidemiilor.

Sistematizarea gnoseologică a HLP trebuie completată cu precizările de ordin etiologic. Din acest punct de vedere, fiecare din cele 6 tipuri de HLP se împarte în două categorii:

- forme secundare unor boli cunoscute (hipotiroidism, diabet zaharat insulino-dependent necontrolat, sindrom nefrotic, obstrucții biliare, pancreatită, disglobulinemie, boli autoimune);
- forme primare, condiționate fie genetic (HLP familiale), fie de factori câștigați, dintre care mai probabil sunt:

- a) alimentația (hiperlipidică, hipersucrată), inclusiv abuzul de alcool;
- b) medicamentele (estrogenii din anticoncepționale sau steroizii din anabolizante).

Rațiuni de ordin practic l-au determinat pe Fredrickson să introducă în grupul HLP primare formele de HLP apărute în cazul diabetului zaharat cetorezistent, pancreatitei sau obezității.

Literatura ultimilor ani abundă în lucrări care vin să confirme acceptarea conceptului HLP și a clasificării WHO.

Și la noi în țară, preocupările în domeniul taxonomiei HL – HLP au fost stimulate de conceptul lui Fredrickson. Preluarea lui constiuie, în cele mai multe cazuri, punctul de plecare al cercetărilor epidemiologice vizând HLP și ateroscleroza.

O dovadă grăitoare asupra caracterului temporar al actualei clasificări a HL – HLP (WHO. – Fredrickson) este adusă de cercetările întreprinse de Carlson și colaboratori (Carlson, 1973, Kuchinskiene și Carlson, 1982; Carlson și Rosenhamer, 1988) Prin determinarea colesterolului și trigliceridelor în fiecare fracție majoră lipoproteinică (LDL, VLDL, HDL) se evidențiază anomalii lipidice și lipoproteice care nu își au corespondența în clasificarea WHO – Fredrickson. Se descrie astfel:

- LDL hipertriacilgliceridemie – se remarcă o creștere a TAG serice care, are drept consecință creșterea concentrației acestora în LDL;

- VLDL hipercolesterolemie – caracterizată prin creșterea colesterolului seric cu implicații asupra creșterii concentrației acestuia în VLDL;
- HDL hipertriacilgliceridemie – marcată prin creșterea TAG serice, având drept consecință creșterea concentrației acestora în HDL.

Dacă se ia în considerație importanța deosebită a acestor observații nu este exclus ca în viitor, să asistăm la reconsiderarea taxonomică a HL – HLP.

3.8.3. CLASIFICAREA ÎN ACCEPȚIA BILLIMORIA

Clasificarea fracțiunilor lipoproteice după Billimoria et al. (1971), se bazează pe următoarele operațiuni preliminare:

- a) se determină acizii grași esterificați în ser, concomitent cu indicele relativ de culoare (IRC), apreciat din benzile electroforetice beta și prebeta (electroforeza pe hârtie);
- b) se calculează indicele acizilor grași esterificați (IAGE), conform formulei:

$$IAGE = \frac{IRC}{100} \times ACE \text{ (mg\%)}$$

în care: IRC – indice relativ de culoare

ACE - acizii grași esterificați din serul sanguin

Limitele stabilite de autori pentru IAGE la martori (i.e grupa de control) cu subiecți cunoscuți sub aspect clinic, pentru benzile de migrare electroforetică, sunt:

- pentru banda beta: 180 mg % (martori între 40 - 70 ani); 140 mg% (martori între 19 - 39 ani)
- pentru banda prebeta: 120 mg% (martori între 40 - 70 ani); 70 mg% (martori între 19 - 39 ani)

În funcție de mărimea IAGE, conform clasificării recomandate de Billimoria et al. (1971), au fost propuse următoarele clase de hiperlipoproteinemii:

- clasa C: creșterea chilomicronilor
- clasa B: creșterea beta-lipoproteinelor
- clasa „broad beta-lipoproteinelor “: creșterea beta-VLDL
- clasa P: creșterea prebeta – lipoproteinelor
- clasa BP: creșterea beta-lipoproteinelor și hiperprebeta-lipoproteinelor
- clasa PB: creșterea prebeta-lipoproteinelor și beta-lipoproteinelor

- clasa CPB: hiperchilomicronemiei și creșterea hiperprebeta-lipoproteinelor.

În tabelul 3-16 este redată, comparativ, corespondența fracțiunilor electroforetice în cazul hiperlipoproteinelor după clasificarea Billimoria raportat la clasificarea Fredrickson. Se reamintește că în cazul clasificării Fredrickson s-a identificat șase tipuri de hiperlipoproteinemii și această clasificare a fost acreditată de WHO.

Tabel 3-16. Date electroforetice comparative pentru fracțiunile lipoproteice în clasificarea Fredrickson în raport cu clasificarea Billimoria

Clasificarea Fredrickson (tipuri acreditate de WHO)	Fracțiuni lipoproteice				Clasificarea Billimoria	Observații generale
	Chilo	β	Pre β	β		
I	+	N	N		C	
II A	-	+	N		B	
III	-	Broad β	N		Broad β -LP	Necesită ultracentrif.
IV	-	N	+		P	
II B	-	++	+	<0,5	BP	
-	-	+	++	>0,5	PB	
V	+	+	+		CPB	

Avantajele acestei sistematizări și expuneri comparative constau în:

- decelarea hiperlipoproteinemiei (HLP) „minime” în condițiile investigații limitate a fracțiunilor electroforetice;
- introducerea clasei BP, fără corespondență în clasificarea Fredrickson, ceea ce aduce o anumită simplificare a evaluării HLP;
- eliminarea determinării colesterolului și triacilgliceridelor serice ca metode absolut necesare pentru investigație.

Cu toate avantajele relevate mai sus, suverană rămâne clasificarea Fredrickson (acreditată de WHO), pentru considerentul că aduce o anumită rigoare la evaluarea statusului morfofuncțional în cazul hiperlipoproteinemiilor. La faptul că există anumite date de chimie clinică cu caracter predictiv (Kaplan și Keil, 1993; Havel și Kanel, 2001) trebuie menționat și faptul că se cunosc deja mijloace de intervenție în cazul utilizării diverselor medicamente chimioterapice (Kritchevsky, 1975; Must et al., 1992; Wiegman et al., 2004). Se remarcă rolul chimiei și al biochimiei în ambele circumstanțe: al chimiei clinice prin investigațiile de laborator clinic (specifice lipidologiei) și al chimiei farmaceutice prin selectarea

chimioterapicelor care pot fi utilizate selectiv în dislipidemii. Detaliile privitoare la aceste aspecte, depășesc însă cadrul prezentei lucrări.

3.8.4. LEZIUNEA BIOCHIMICĂ ÎN CAZUL DISLIPIDEMIILOR

3.8.4.1. Leziunea biochimică - generalități

La baza apariției simptomelor clinice ale diverselor boli se află leziunea biochimică. Dacă această leziune este de scurtă durată, procesul este reversibil, iar dacă de lungă durată devine ireversibil, determinând modificări fiziopatologice și, în final, morfopatologice.

Cu privire la leziunea biochimică cu potențial patologic (patobiochimic) literatura de specialitate (Gregoire, 1971; Benson și Fensom, 1985; Gornall, 1986; Albu și Pi-Sunyer, 1998; Garban, 2005a) evidențiază existența a două tipuri de leziuni:

- 1) leziuni biochimice dobândite – care interesează procesele metabolice declanșate la nivel celular, cauzate fiind de: insuficiența sau excedentul de nutrienți care grevează metabolismele materiale (glucidic, lipidic, protidic, hidro-electrolitic) și metabolismul energetic; prezența xenobioticelor a căror biotransformare se produce în același timp cu metabolizarea nutrienților; substituirea ireversibilă a unei substanțe structurale esențiale cu o substanță care are o structură asemănătoare dar efect letal pentru celulă (circumstanță numită colocvial în literatura de specialitate “sinteză letală”); prezența unor antagoniști metabolici etc. – unele din acestea legate de regimul de viață.
- 2) leziuni biochimice ereditare – care reprezintă: tulburări metabolice genetice (înnăscute), spre exemplu enzimopatii, aminoacidopatii; existența unor mutații cromosomiale care interesează eredopatologia etc.

În cele ce urmează se vor enumera principalele cauze ale producerii leziunilor biochimice în celulă: a) insuficiența unor nutrienți din alimente, spre exemplu: aminoacizi esențiali, acizi grași esențiali, vitamine, bioelemente metalice; b) exces de nutrienți, spre exemplu: exces de colesterol, exces de triacilgliceride etc.; c) sistarea controlului de feedback; d) interacții cu medicamente, spre exemplu: consumul de medicamente poate încetini sau accelera metabolismul, medicamentele se pot lega de receptori sau metaboliți, intră în competiție cu substratul endogen; e) intoxicații cu micotoxine, cu toxine bacteriene, cu alte substanțe chimice (numite cu un termen generic xenobiotice); etc.

Problema leziunii biochimice în cazul dislipidemiilor și dislipoproteinemiilor cu implicații în apariția bolilor cardiovasculare se discută în continuare.

3.8.4.2. De la leziunea biochimică la patologia de aparat

Investigațiile întreprinse în domeniul biochimiei, fiziologiei și morfologiei abordând stările patologice, în speță patobiochimia, fiziopatologia, morfopatologia, se pot adresa diverselor nivele de integrare specifice sistemelor biologice. Se reamintește conceptul general al integrării pornind de la moleculă la biosferă, spre exemplu: biomoleculele se integrează celulei, celulele se integrează țesutului, țesuturile se integrează organului, organele se integrează organismului, organismele se încadrează speciilor ș.a.m.d.

Pornind de la preceptele patologiei generale Zetkin (1968) a evidențiat posibilitatea unei clasificări pe care au reluat-o diversele tratate de patologie. Astfel, în accepția patologiei generale se disting: a) patologia geografică; b) patologia specio-specifică; c) patologia de aparat/de sistem; d) patologia celulară; e) patologia moleculară. O succintă descriere a acestora se preia din volumul Xenobiochimie: Tratat comprehensiv (Garban, 2005b), redându-se în continuare.

Patologia geografică – se adresează celui mai înalt nivel de integrare individuală – populația, interesând distribuția teritorială a bolilor. În acest context se circumscriu aspectele de pandemie, epidemie și endemie la om (cu variantele de panzootie, epizootie și enzootie la animale).

Patologia specio-specifică – abordează problema indivizilor din diverse specii, a particularităților organice deci, a specificului morfofiziologic și, evident, ale modificărilor fiziopatologice și morfopatologice.

Patologia de “aparat” și/sau “sistem” – este circumscrișă, limitându-se la un anumit aparat (cum ar fi aparatul digestiv, cardiovascular, respirator etc.) sau la un sistem (cum ar fi sistemul nervos central, sistemul endocrin etc.).

Patologia celulară – termen lansat de Virchow (1859) – a urmărit să statueze accepția faptului că la baza etiopatogeniei este “leziunea celulară”.

Patologia moleculară – conturată în perioada 1923-1930, prin lucrările lui Shade (citată de Zetkin et al., 1968) a fost considerată ca un domeniu complementar al patologiei celulare. Această nouă ramură a patologiei urmărește “injuria biochimică” pornind de la definirea cauzelor și mecanismelor fizico-chimice care se află la originea stărilor morbide.

Referirile prezentate în xenobiochimie se corelează cu leziunile biochimice induse la nivelul macromoleculelor de DNA, cu implicațiile acestora în procesele mutagene și oncogene.

În cazul lipidelor și lipoproteinelor – domeniu care face obiectul de studiu al prezentei teme – este posibilă abordarea contextuală a problemei leziunii biochimice sau, mai exact

spus, a “patologiei moleculare” a cărei corelare se face însă cu “patologia de aparat” în cazul afecțiunilor cardiovasculare.

Cercetările în această direcție sunt orientate spre evaluarea “leziunii biochimice” ca o consecință a “injuriei moleculare” la originea căreia se află hiperlipemiile și, îndeosebi hiperlipoproteinemiile. În acest cadru observarea și interpretarea implicațiilor leziunii biochimice se urmăresc în direcțiile explicate ale: patobiochimiei – excesul de metaboliți lipidici și lipoproteinici; fiziopatologiei – modificările induse de metabolismul lipidic la nivel de celulă și, îndeosebi, la nivel de țesuturi (vase, sistemul vascular de la nivelul encefalului și miocardului); morfopatologiei – apariția formațiunilor ateromatoase și, în general, a modificărilor intravasculare în cazul dislipidemiilor (Silvestri et al., 1993; Strong și McGrill, 1999; Neistein, 2002; Reinerh et al., 2004).

Evident, din pleiada manifestărilor menționate mai sus, domeniul abordat – aflat în strânsă conexiune cu patologia de aparat (în cazul de față aparatul cardiovascular) – se referă la aspectele caracteristice modificărilor homeostazice ale lipidelor și lipoproteinelor în perioada de adolescență. Acestea au caracter predictiv în declanșarea în timp a mecanismelor patobiochimice, fiziopatologice și morfopatologice care, conduc subiecții investigați, inițial în scop preventiv, spre pacienți investigați în scop curativ (Lauer et al., 1975; Lauer et al., 1988; Becque et al., 1988; Jacobson et al., 1993; Havel și Rappaport, 1995; Miller et al., 2002; Karelis et al., 2004).

3.8.4.3. Dislipidemia și dislipoproteinemia în apariția bolilor cardiovasculare

În prezent este cunoscut - grație mijloacelor de mass media - de către tot mai multe persoane, faptul că în țările puternic industrializate patologia este dominată de boli degenerative. Din punctul de vedere al morbidității și al mortalității, pe primul loc se situează bolile aparatului cardiovascular, după acestea urmează bolile canceroase, diabetul zaharat, bolile respiratorii și hepatice.

Bolile aparatului cardiovascular sunt degenerative într-o proporție de 95% și sunt declanșate de procesele aterosclerotice la baza cărora se află interacții biochimice care afectează predilect metabolismul lipidelor și lipoproteinelor (Carlson, 1973; Snyder, 1977; Devlin, 1992; Fuster et al., 2001; Cook et al., 2003). Leziunile biochimice consecutive tulburărilor homeostaziei biochimice afectează în mod special următoarele regiuni ale

aparaturii vasculare: artere coronariene, artere cerebrale, artere periferice. Dintre acestea, îmbolnăvirile vaselor coronare sunt cele mai frecvente.

Procesul aterosclerotic începe devreme, în prima decadă a vieții, și progresează mai lent sau mai rapid, în funcție de factorii genetici (ereditari) și factorii de risc (mod de viață, alimentație) ai fiecărui individ în parte (Liu et al., 1982; Mallory et al., 1989; Nader et al., 1997; Manios et al., 1999; McMurray et al., 2002; Slyper, 2004).

Principalii factori de risc ai procesului aterosclerotic sunt: hipercolesterolemia, hiperlipidemia, în unele cazuri hiperglicemia – ca procese biochimice. La acestea se adaugă hipertensiunea, obezitatea, sedentarismul, diabetul zaharat, tabacismul, alcoolismul, utilizarea de anticoncepționale orale etc. (Voors et al., 1976 ; Gupta et al., 1994; Strauss și Knight, 1999; Tolfley et al., 2000; Fuster et al., 2001; Wang și Wang, 2002; Faraj et al., 2004; Eckel et al., 2005).

În formarea plăcii aterosclerotice radicalii liberi – rezultați din interacțiunile metabolice la nivel vascular joacă un rol important, favorizând oxidarea LDL-colesterolului. În continuare, LDL-colesterolul oxidat se depune în celulele macrofage dând naștere la așa numitele "celule spumoase", care vor cauza leziunea endoteliului vascular. La nivelul acestei leziuni endoteliale va avea loc agregarea trombocitară, eliberarea de prostaglandine, infiltrarea endoteliului vascular cu LDL-colesterol, proliferare celulară, apariția plăcii fibromatoase.

Ca urmare a procesului aterosclerotic și formării plăcii ateromatoase, diametrul peretelui vascular se micșorează, reducându-se și debitul sanguin circulator ceea ce conduce la hipoxie tisulară, spre exemplu hipoxia miocardului în cazul afectării vaselor coronariene. Hipoxia la nivelul miocardului poate declanșa apoi angina pectorală sau chiar apariția infarctului miocardic. Problemele referitoare la leziunea biochimică indusă de dislipidemie și dislipoproteinemii – discutată în acest subcapitol – reprezintă momentul esențial al declanșării acțiunilor patogene.

3.9. Investigarea conexă a calcemiei și magneziemiei alături de lipidemie și lipoproteinemie

Cu referire la rolul calciului în dislipidemie se cunoaște faptul că administrarea diferitelor preparate de calciu determină scăderea colesterolului plasmatic. Explicația rezidă în faptul că acestea inhibă absorbția colesterolului la nivel intestinal (Mincu și Hâncu, 1976). Mecanismul de acțiune nu este elucidat. De asemenea, nu s-au aflat efecte certe ale calciului asupra triacilgliceridelor, deși se cunoaște rolul calciului în saponificarea acizilor grași liberi.

Cu referire la investigarea homeostaziei serice a calciului și magneziului în perioada de adolescență și evoluția acestora se corelează, în timp, cu apariția tulburărilor cardiovasculare și a tulburărilor endocrine. În acest sens este bine cunoscut efectul apei dure (cu conținut ridicat de Ca și Mg), care are un rol protector. De asemenea, sunt cunoscute tulburările, îndeosebi, de ritm cardiac în carențele de Ca și Mg.

În prezentul subcapitol referitor la calcemie și magneziemie se reiterează câteva aspecte esențiale: a) aceste biometale se pot afla în trei stări diferite: ionizată, chelată la aminoacizii din proteine; complexată cu citrat și fosfat.; b) menținerea concentrației normale este condiționată de factori alimentari, spre exemplu cantumul în micronutrienți minerali al alimentelor și cantumul din apa potabilă; c) intervenția vitaminelor D (calciferolilor); d) acțiunea unor hormoni (parathormonul, calcitonina) în menținerea homeostaziei biochimice a acestora (Matcovic, 1991; Matcovic și Ilich, 1993; Crawley și Shergill-Bonner, 1995; Rona și China, 1995; Jackman et al., 1997; Aumüller, 2004).

Calciul - este un bioconstituent esențial al organismului uman. Concentrația normală a calciului la om în plasma sanguină este: Ca total 9,0-10,5 mg/dL; Ca ionic 4,5-5,5 mg/dL ; calciul în urină 50-300 mg/24 h. Se estimează că în organismului omului adult (cu o greutate medie de 70 kg) se află 1,1-1,5 kg calciu. Distribuția calciului relevă că peste 98 % din acesta se află în sistemul osos, iar restul, în celule și lichide biologice.

Rolul calciului în organism este reprezentat, în principal, în procesele morfogenetice și fiziologice. Este considerat principalul component al scheletului. De asemenea, controlează permeabilitatea tuturor membranelor, antagonizând cu ionii Na^+ și K^+ . În doze mici, alături de magneziu, participă la menținerea excitabilității neuromusculare, dar, la doze mari, acțiunea acestor ioni devine antagonică.

Calciul participă la procesele de coagulare ale sângelui, menținerea stării coloidale a proteinelor, activarea unor enzime cum ar fi: lipaza, fosfataza, tripsina, colinesteraza etc. De asemenea, are un rol important în menținerea statusului homeostaziei metabolismului hidro-electrolitic.

Având în vedere faptul că absorbția și excreția calciului variază în limite destul de largi, literatura de specialitate evită citarea unor cantități optime necesare în rația zilnică. În datele WHO și FAO există, totuși, referiri în acest sens, indicându-se 700-800 mg/zi pentru un adult la un aport vitaminic normal. În perioada de sarcină sau lactație, necesarul crește cu cca 500 mg/zi. Pentru copii, la vârsta de 10-15 ani, necesarul este de 900-1000 mg/zi.

În cazul cercetărilor întreprinse asupra eșantioanelor de adolescenți s-au efectuat determinări ale calcemiei și magneziemiei, apoi s-au calculat mediile și abaterile standard pe

grupe de vârstă. Determinările au fost efectuate pe secvențe din eșantioanele luate în studiu, interesând doar perioada de vârstă de 14-18 ani., considerându-se că, odată cu apariția pubertății, metabolismul hidro-electrolitic, în special a calciului și magneziului, este mai intens (îndeosebi anabolismul).

Astfel, numeric apar diferențe față de eșantioanele inițiale care includ subiecții cu vârsta de 10-18 ani. Din eșantionul de băieți (n_1) care includea 174 subiecți determinările s-au efectuat doar la 72. În cazul eșantionului de fete (n_2) care a inclus 249 subiecți determinările s-au efectuat doar la 131.

În continuare se vor prezenta datele analitice obținute pentru calcemie în investigațiile întreprinse în paralel cu acelea asupra lipidelor și lipoproteinelor.

Rezultatele calcemiei obținute pentru secvența de eșantion băieți care, cuprinde 72 cazuri cu vârsta de 14-18 ani (din eșantionul inițial de 174 subiecți), sunt redată în tabelul 3-17.

Tabel 3-17. Valori medii și domenii limită ale calcemiei la secvența din eșantionul de băieți

Grupe de vârstă (ani)	Număr subiecți		Valori analitice (mg/dL) $X \pm DS$	Domenii limită individuale (mg/dL)	
	Număr cazuri (secvențial)	Subiecți incluși în grupe			
		Date absolute	Date relative din total (%)		
14	72	30	17,24	9,55 \pm 0,67	9,30 – 10,20
15		13	7,47	9,69 \pm 0,51	9,10 – 10,20
16		18	10,34	9,45 \pm 0,58	9,50 – 10,70
17		8	4,60	10,37 \pm 0,47	9,60 – 11,00
18		3	1,74	10,20 \pm 0,36	9,80 – 10,50

Din tabelul 3-18 se remarcă valori mai crescute ale calcemiei la vârstele de 17 și 18 ani. Valoarea minimă este la vârsta de 16 ani

În continuare se prezintă rezultatele pentru calcemie, expuse în tabelul 3-18, la secvența de eșantion fete (grupele de vârstă 14-18 ani) cu 131 cazuri, din totalul eșantionului de 249 subiecți..

Tabel 3-18. Valori medii și domenii limită ale calcemiei la secvența din eșantionul de fete

Grupe de vârstă (ani)	Număr subiecți		Valori analitice (mg/dL) $X \pm DS$	Domenii limită individuale (mg/dL)	
	Număr cazuri (secvențial)	Subiecți incluși în grupe			
		Date absolute	Date relative din total (%)		
14	131	36	14,45	9,40 ± 0,73	8,10 – 10,50
15		36	14,45	9,35 ± 0,86	7,90 – 11,80
16		25	10,04	9,15 ± 0,72	7,70 – 11,10
17		16	6,42	9,50 ± 0,70	8,40 – 10,90
18		18	7,26	9,50 ± 0,56	8,80 – 10,50

Din datele obținute pentru calcemie (tabel 3-19) s-au decelat valori mai crescute la 17-18 ani (de fapt identic) și valori minime la 16 ani. Aceste rezultate prezintă unele similitudini cu datele obținute la secvența de eșantion de băieți pentru aceleași grupe de vârstă.

Magneziul – este, de asemenea, un constituent biomineral esențial al organismului. Concentrația magneziului în plasma sanguină este de 1,8-2,4 mg/dL, iar magneziul în urină este de 60-200 mg/24 h. Se află în organismul omului adult în cantități de 25-30 mg. În general, cca 60 %, se află în schelet, în mușchi și alte țesuturi moi în proporție de 39%, iar extracelular, în proporție de 1%. Restul magneziului se află distribuit în celule și în spațiul extracelular. Se apreciază că în organismul uman Mg se află sub o formă difuzabilă în proporție de 80 %, iar restul de 20 %, sub formă nedifuzabilă, fiind legat de proteine.

În organism, magneziul are roluri biologice multiple și complexe: intervine în metabolismele materiale; participă, alături de calciu și fosfor, la asigurarea structurii de rezistență osoasă; reduce excitabilitatea neuro-musculară a fibrelor miocardice; alături de ionii Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , ionul Mg^{2+} este implicat în conductibilitatea electrică a cordului și contractibilitatea fibrelor musculare ale miocardului; carența Mg^{2+} și K^+ facilitează apariția aritmiilor și a fenomenelor toxice la digitalice; intervine în eliberarea grupărilor fosfat macroergice din ATP, AGP, ACP etc., asigurând fosforilările oxidative necesare în procesele de biosinteză cu mar fi: sinteza de acizi nucleici, sinteza de proteine; intervine în transmiterea influxului nervos și în fenomenele de transport transmembrantar; reduce acumularea de colesterol la nivelul pereților vasculari în procesul de aterogeneză (acțiune antiaterogenă); produce activarea sintezei imunoglobulinelor; intervine în activarea DNA-polimerazei, RNA-

polimerazei, formarea amino-acil- adenilatului în stadiul inițial al sintezei RNA. Magneziul intervine, de asemenea, în procesul de fotosinteză (cromoproteidele specifice clorofilei conțin ionul de Mg^{2+}).

Determinările magnezimiei efectuate la o secvență din eșantionul de băieți sunt redate în tabelul 3-19.

Tabel 3-19. Valori medii și domenii limită ale magnezimiei la secvența din eșantionul de băieți

Grupe de vârstă (ani)	Număr subiecți		Valori analitice (mg/dL) $X \pm DS$	Domenii limită individuale (mg/dL)	
	Număr cazuri (secvențial)	Subiecți incluși în grupe			
		Date absolute			Date relative din total (%)
14	72	30	17,24	1,95 \pm 0,62	1,70 – 2,10
15		13	7,47	1,91 \pm 0,18	1,80 – 2,20
16		18	10,34	1,85 \pm 0,11	1,70 – 2,20
17		8	4,60	2,00 \pm 0,16	1,80 – 2,20
18		3	1,74	2,00 \pm 0,25	1,80 – 2,30

Rezultatele pentru magnezimie la grupele de vârstă între 14-18 ani au evidențiat valori mai crescute la vârstele de 17-18 ani (considerate ca ani finali ai perioadei de adolescență) și mai scăzute la 16 ani.

Referitor la magnezimie, s-a procedat similar și în cazul secvenței din eșantionul de fete. Datele obținute sunt expuse în tabelul 3-20.

Tabel 3-20. Valori medii și domenii limită magnezimiei la o secvență din eșantionul de fete

Grupe de vârstă (ani)	Număr subiecți		Valori analitice (mg/dL) $X \pm DS$	Domenii limită individuale (mg/dL)	
	Număr cazuri (secvențial)	Subiecți incluși în grupe			
		Date absolute			Date relative din total (%)
14	131	36	14,45	1,93 \pm 0,39	1,80 – 2,20
15		36	14,45	1,80 \pm 0,41	1,70 – 2,10
16		25	10,04	1,86 \pm 0,26	1,80 – 2,00
17		16	6,42	2,00 \pm 0,17	1,80 – 2,20
18		18	7,26	2,10 \pm 0,22	1,70 – 2,50

În cazul acestora se constată valori maxime tot la vârstele de 17-18 ani, iar minima la vârsta de 15 ani.

Datele obținute cu anumite caracteristici, spre exemplu, valori crescute în toate cazurile la vârsta de 17-18 ani și valori scăzute la vârsta de 15-16 ani, confirmă modificările fiziologice specifice stadiului pubertății în care, intervin atât hormonii paratiroidieni (parathormonul/calcitonina) cât și hormonii steroizi. Astfel, vor exista implicații în modificările metabolismelor materiale, predilect metabolismul hidro-electrolitic, metabolismul lipidic și metabolismul protidic (creștere, dezvoltare, maturizarea funcțiilor gonadice).

Dintre bioelementele metalice cu efect preventiv în bolile cardiovasculare se menționează în primul rând Mg. Acest metal este prezent în peste 300 de enzime și are rol antioxidant binecunoscut (împiedică oxidarea LDL-colesterolului). Numeroase cercetări au relevat că magneziemia modifică și nivelul seric al lipidelor și lipoproteinelor (Seelig, 1980; . Insuficiența de magneziu accelerează procesul aterosclerotic prin favorizarea depunerii lipidelor în endoteliul vascular datorită stimulării activității macrofagelor, prin influențarea factorilor declanșatori ai vasodilatației-vasoconstricției (menține o stare de spasm ceea ce reduce circulația sanguină și accentuează hipoxia). Spasmul accelerează depunerea lipidelor oxidate și/sau formarea radicalilor liberi. Hipomagneziemia determină și creșterea agregării trombocitare, adică tendința trombotică a plăcii ateromatoase, ceea ce atrage după sine și alte complicații.

Prevenirea formării plăcii ateromatoase, adică profilaxia bolilor cardiovasculare, se poate realiza prin recomandarea administrării anumitor vitamine au rol antioxidant (vitamina C, vitaminele E), substanțe biominerale (Se, Zn, Mg etc.).

Importante cercetări există și asupra rolului diverselor oligoelemente care acced în organism odată cu nutriției (principiile nutritive) și cu apa. În 1968, Crawford et al. (citați de Mincu și Hâncu, 1983) au sesizat pentru prima dată intervenția oligoelementelor în procesul aterosclerotic și boala coronariană. Cercetările efectuate pe plan internațional ca urmare a acestei observații au relevat că zincul și cuprul joacă un rol important în prevenirea bolilor coronariene. Cercetări întreprinse asupra gradului de ateroscleroză coronariană și aortică au evidențiat reacția între procesele degenerative și concentrația unor oligoelemente. Astfel a fost relevată existența unei relații de inversă proporționalitate între concentrația Cu, Co, Zn și Se și gradul de ateroscleroză Kernbaum, 1990; Walsh și Devlin, 1998; Steinberg, 1999). O anumită implicare, un pe deplin elucidată, are și fierul (Keskin et al., 2005).

Pe plan internațional se cunoaște că Japonia este țara în care mortalitatea, prin boli cardiovasculare, este cea mai scăzută. Acest fapt este atribuit unei alimentații bogate în Cu și se bazează pe studii efectuate asupra imigranților japonezi în Brazilia unde, mortalitatea prin boli coronariene a acestora a crescut de patru ori (explicat prin schimbarea alimentației - săracă în Cu) – v. Mincu, 1993. Se presupune că există două mecanisme prin care cuprul ar putea influența procesul aterosclerotic: a) ameliorarea leziunilor endoteliului vascular fiind un co-factor important al lizil-oxidazei, enzimă care participă în "cross-linking"-ul elastinei și colagenului; b) asigurarea de protecție antioxidantă fiind co-factorul superoxid-dismutazei și oprirea oxidării lipoproteinelor.

Zincul este un alt oligoelement cu rol important în prevenirea aterosclerozei. Intră în compoziția a numeroase enzime care participă la procesele metabolice ale organismului. Cercetările efectuate au demonstrat că zincul scade nivelul colesterolemiei, participă la utilizarea vitaminei A în organism, crescând indirect capacitatea de antioxidare.

Cromul influențează pozitiv starea de sănătate prin faptul că este component al factorului de toleranță la glucoză. Abraham et al. (1980) au demonstrat că administrarea de CrCl_3 la iepuri a condus la regresia aterosclerozei. Factorul de toleranță la glucoză acționează, de asemenea, ca și un cofactor, în ceea ce privește legarea insulinei la receptori. Deficiența de crom reduce legarea glucozei la receptorii specifici, ceea ce se manifestă prin creșterea glicemiei. În cazul în care glucoza nu este utilizată în organism se transformă în grăsimi, crescând nivelul sangin al lipidelor, factor de risc cunoscut în formarea bolilor cardiovasculare. Cercetări experimentale au dovedit că starea de stres reduce depozitele de crom din organism.

Manganul participă la procesele metabolice în care sunt implicați și glicozaminoglicanii (GAG) aflați în pereții arteriali. Deficitul de mangan reduce concentrația glicozaminoglicanilor și modifică compoziția acestora, având ca și consecință apariția unor leziuni în peretele arterial, accelerând astfel procesul aterosclerotic. Elementele metalice menționate mai sus sunt cele mai importante în prevenirea formării plăcilor ateromatoase.

În prevenirea modificărilor homeostaziei biochimice cu implicații în patologia aparatului cardiovascular se are în vedere existența factorilor de risc care accelerează procesele de ateroscleroză. În acest scop se impune un regim de viață în care se evită sedentarismul, tabacismul, alcoolismul și practicarea exercițiilor fizice alături de un regim alimentar adecvat cantitativ și calitativ.

În general, o alimentație necorespunzătoare: bogată în macronutrienți care conțin lipide saturate; aportul crescut de macronutrienți glucidici sau proteici, are drept consecință

apariția obezității, hipercolesterolemiei, hiperlipoproteinemiei, cunoscuți factori de risc în apariția bolilor cardiovasculare.

De asemenea, se cunoaște faptul că sedentarismul, fumatul, consumul de alcool etc. cresc nevoile organismului, împiedică absorbția unor vitamine, duc la pierderi excesive de minerale.

Știind că ateroscleroza este un proces cu debut în primele decenii ale existenței omului și că este accelerat de anumiți factori de risc se poate interveni ca manifestările clinice ale unor boli cardiovasculare să apară cât mai tardiv. În acest scop se acționează asupra factorilor de risc menționați și, indirect, asupra mecanismului aterosclerotic.

Aceste observații motivează studiile întreprinse asupra lipidelor sanguine (colesterolemia totală, triacilgliceridemia) și lipoproteinelor sanguine (HDL-colesterolemia, LDL-colesterolemia) extinse, în cazul de față, și asupra calcemiei și magneziemiei la subiecții aflați la vârsta adolescenței.

4. EVALUAREA ȘI PREDICȚIA ÎN RELAȚIA DINTRE DISHOMEOSTAZIA BIOCHIMICĂ ȘI SOMATOMETRIE

4.1. CONSIDERAȚII GENERALE

Perturbarea homeostaziei biochimice a lipidelor și lipoproteinelor poate fi consecința unor tulburări genetice – situație care face obiectul eredopatologiei sau a unor tulburări metabolice dobândite – situație studiată de patologia bolilor degenerative interesând predilect aparatul cardiovascular. Evident, în ambele situații se apelează, în ultimă instanță, la explicare bazată pe conceptele patologiei biochimice. În cazul tulburărilor din domeniul endopatologiei se urmărește corespondența între datele de microscopie electronică privitoare la cromosomi (aspecte genotipice) și efectele asupra diverselor procese metabolice – a unor căi biochimice marcate de perturbări de compoziție, structură sau quantum ale unor bioconstituenți în metabolismele materiale. Astfel de situații sunt urmate de modificări morfofiziologice (aspecte fenotipice). Acest mod de abordare a problemelor privește genomica și biologia moleculară (Benson și Fensom, 1985; Armstrong, 1989; Davidson și Sittman, 1994; Garban, 1999; Despres, 2001).

În general însă, și aceasta reprezintă cazuistica mai frecventă, se evaluează modificările apărute ca o consecință a «tulburărilor metabolice dobândite. La vârstele adulte observațiile pot fi concludente și datele corelate în timp, e.g. existența unei hiperlipidemii, a unei hiperlipoproteinemii constatate la repetate investigații bazate pe chimia clinică și uneori corelabile deja cu tulburări cardiovasculare (Callabero, 2001; Faraj et al., 2004). Caracteristici speciale există însă la vârstele tinere când nu sunt “instalate” tulburări morfofuncționale, iar unele erori în regimul alimentar pot fi corectate prin mijloace specifice medicinei preventive (Ellefson et al., 1978; Deurenberg et al., 1991).

Acest mod de abordare a hiperlipidemiilor și lipoproteinemiilor face și corelația cu două aspecte ale patologiei biochimice moderne abordate în așa numita “patologie nutrițională și metabolică” (Gornall, 1986; Havel și Kanel, 2001).

În acest cadru se discută conceptele de “boală de nutriție” (nutrițională) și “boală de metabolism” (metabolică). În domeniul nutrițional se fac anumite diferențe care în ultimă instanță fac trimitere la aspecte care se definesc prin biochimia alimentară și patologia biochimică (Hagman et al., 1986; Jiang et al., 1995; McNamara, 2000).

Boala nutrițională - se poate defini ca o tulburare indusă de imperfecțiunile calitative și/sau cantitative ale alimentelor. În astfel de situații la origine se află carența sau excesul de nutrienți, dar și dezechilibrul acestora în rația zilnică.

Boala metabolică – se caracterizează prin tulburări ale diverselor “căi metabolice” (biochemical pathways) numite adesea “căi metabolice” care induc incapacitatea de biodegradare/biosinteză a anumitor metaboliți. La originea bolii metabolice se află deci “defecte înnăscute” sau “defecte dobândite” (Knight et al., 1972; Maslovska et al., 1999; Meier și Gressner, 2004).

Desigur aceste precizări necesită unele reconsiderări, în acest sens tratatele de specialitate arată că anumite boli de nutriție pot deveni – cu trecerea timpului – boli de metabolism (Altman și Dittmer, 1968; Mincu, 1993; Callabero, 2001). Exemple tipice pentru bolile de metabolism sunt enzimopatiile (caracterizate prin ineficiența sau insuficiența unor sisteme enzimatică în biodegradarea unor nutrienți sau biosinteza unor metaboliți). Exemple concrete de astfel de boli sunt: hemosideroza – stocare lizosomală de Fe (și în general de metale grele), manozidoza – stocare lizosomală de manoză (prin lipsa manozidazei).

În contextul bolilor de nutriție și metabolism se discută de asemenea ateroscleroza, diabetul, ș.a. Specific aterosclerozei este faptul că aceasta poate fi cauzată în principal de consumul unor alimente aterogene (Boedhi-Darsono et al., 1990; Fisher și Birch, 1995). Astfel de alimente sunt, spre exemplu lipide simple: triacilgliceroli, steride; lipide complexe: glicerofosfolipide și lipoproteine. La originea aterosclerozei se pot afla însă și leziuni vasculare primordiale de natură virală. De asemenea, în literatura de specialitate se vorbește tot mai frecvent de “factori predispozanți”, ceea ce implică modificări (de cinetică, de retenție, depozitare) a produșilor (metaboliților) rezultați din reacțiile de biosinteză a lipidelor și lipoproteinelor.

Specific în cazul diabetului, spre a exemplifica și aspecte din metabolismul glucidic, apariția bolii poate avea la origine consumul prelungit de alimente diabetogene, e.g. compuși glucidici rafinați, îndeosebi sucrosa (Boulton et al., 1995; Kang et al., 2002; Stefan, 2002). Dar pot exista și alte cauze, e.g.: leziuni pancreatice (cu afectarea sintezei de insulină), leziuni corticosuprenale cu producerea în exces de corticosteron (așa numitul sindrom de hiperadrenocorticism).

În continuare se vor prezenta – în cadrul cercetărilor întreprinse – aspecte referitoare la modificările homeostazice ale lipidelor și lipoproteinelor și corelarea acestora cu indicele de masă corporală. Evident cercetările fiind efectuate pe subiecți tineri se estimează că unele cazuri de hiperlipemie, respectiv hiperlipoproteinemie sunt tributare nutriției deficitare în sensul existenței unui dezechilibru al nutrienților (în accepția terminologiei utilizate mai sus – a unui exces de alimente aterogene).

4.2. POSIBILITĂȚI DE CORELARE A HOMEOSTAZIEI BIOCHIMICE CU INDEXUL DE MASĂ CORPORALĂ

Pentru a realiza o corelare a valorilor medii ale fracțiunilor lipidice și lipoproteice pentru subiecții luați în studiu, s-a procedat la determinarea «Indexului de Masă Corporală» - BMI (Body Mass Index).

În acest scop s-a procedat, într-o etapă preliminară, la determinări somatometrice staturale – talia subiecților și ponderale – greutatea subiecților. Din valorile acestora s-a aflat BMI și ulterior s-au efectuat comparații.

4.2.1. PRELIMINARII ÎN SOMATOMETRIE

Așa cum s-a arătat, în cursul investigațiilor cu specific analitic asupra lipidelor și lipoproteinelor serice s-au efectuat și determinări somatometrice (v. Cap. 3.5). La fiecare din subiecții luați în studiu s-a determinat greutatea în kg și statura (talia) în cm.

Datele somatometrice staturale și ponderale numite adesea și „date antropometrice” (referindu-se la om), sunt redată în tabele speciale pentru fiecare eșantion pe grupe de vârstă. Evident se redau valorile medii (\bar{X}) și abaterile standard (DS) pentru ambele eșantioane la toate grupele de vârstă. În cadrul fiecărei grupe s-au stabilit domeniile limită (minim-maxim) ale valorilor individuale pentru subiecții luați în studiu.

Din datele primare obținute pe diverși subiecți s-au evaluat și domeniile de variație pentru fiecare grupă de vârstă. Similar, s-a procedat și cu toate valorile rezultate din măsurătorile somatometrice staturale și ponderale la eșantioanele constituite din băieți și din fete de diverse vârste în condițiile protocolului de cercetare descris (v. Cap. 3.).

O privire generală asupra somatometriei la om evidențiază faptul că tipurile de măsurători sunt mai complexe, mai numeroase. Spre exemplu, în afară de talie și greutate se mai măsoară și circumferința corporală. De asemenea, există măsurători care interesează alte regiuni ale corpului, spre exemplu cap, trunchi, membre.

Evident, în cazul de față suntem interesați doar de înălțime și greutate spre a putea determina Indexul de Masă Corporală (BMI). Scopul este acela de-a face corelații cu homeostazia biochimică în cazul lipidelor și lipoproteinelor.

Aflarea Indexului de Masă Corporală pentru fiecare subiect și utilizarea așa numitelor «Diagrame Clinice de Creștere» (Clinical Growth Charts), cu mărimi exprimate în percentile, permite definirea valorilor reprezentative pentru corelarea ulterioară cu fracțiunile lipidice și lipoproteice determinate prin metode specifice chimiei analitice sau calculate din acestea.

4.2.2. EVALUAREA DATELOR SOMATOMETRICE

4.2.2.1. Utilizarea diagramei clinice de creștere

Modalitatea de evaluare a parametrilor somatometrici prin «Diagrame Clinice de Creștere» este utilizat curent în practica medicală și a fost standardizat de Centrul Național pentru Statistica și Sănătate (National Center for Health Statistics) în colaborare cu Centrul de Control al Bolilor și Prevenire (Center for Disease Control and Prevention) din SUA (Hammer et al., 1991; Pietrobelli et al., 1998; <http://www.cdc.gov/growthcharts-2006>) .

Diagramele clinice de creștere reflectă modificările în formatul diagramei individuale prin care două diagrame individuale apar pe o singură pagină și la care s-au adăugat tabele cu „data entry”. Diagramele clinice sunt exprimate în unități metrice (kg, cm) și, secundar, în alte unități, spre exemplu lb, in etc.. Există diagrame clinice disponibile atât pentru fete și pentru băieți. Diagramele clinice disponibile includ date pentru :

I. Copii mici, de la naștere la 36 luni

- 1) Talia (înălțimea) corespunzătoare vârstei și greutate corespunzătoare vârstei
- 2) Circumferința capului corespunzătoare vârstei și greutatea corespunzătoare lungimii

II. Copii și adolescenți de la 5 - 20 ani

- 3) Talia corespunzătoare vârstei și greutatea corespunzătoare vârstei
- 4) Index de masă corporală (BMI) corespunzătoare vârstei

III. Preșcolari, de la 2 - 5 ani

- 5) Greutatea corespunzătoare vârstei

Diagramele clinice copii mici și copii mai mari au fost publicate în două seturi.

Setul 1 conține 10 diagrame (5 pentru băieți și 5 pentru fete) cu liniile percentilice de 5, 10, 25, 50, 75, 90 și 97 în toate diagramele și de 85 percentilice pentru BMI pentru vârstă și greutate-statură (<http://www.cdc.gov/nchs/about/major/nhanes/growthcharts/datafiles.htm>).

Setul 2 conține 10 diagrame (5 pentru băieți și 5 pentru fete) cu liniile percentilice de 3, 10, 25, 50, 75, 90 și 95 în toate diagramele și de 85 percentilice pentru BMI pentru vârstă și greutate-statură (<http://www.cdc.gov/nchs/about/major/nhanes/growthcharts/datafiles.htm>).

4.2.2.2. Rezultatele investigațiilor somatometrice

Evaluarea și interpretarea datelor somatometrice este importantă în antropometrie dar prezintă un interes major pentru biochimie și predicția în patobiochimie dacă sunt corelate cu investigațiile analitice din chimia clinică. În acest subcapitol se parcurg inițial datele referitoare la somatometrie, necesare pentru determinarea indexului de masă corporală – BMI. Apoi, se corelează cu aspectele de biochimie.

A. Evaluarea datelor somatometrice - preliminară

Astfel de date pot releva posibile abateri de la relația dintre creșterea progresivă a înălțimii cu vârsta - caracteristică statusului morfofiziologic al perioadei de adolescență.

Datele somatometrice staturale și ponderale obținute la eșantionul de băieți (n_1) sunt redate – pe grupe de vârstă în tabelul 4-1.

Tabel 4-1. Date somatometrice staturale și ponderale la adolescenți din eșantionul care a inclus băieți pe grupe de vârstă

Grupe de vârste (ani)	Număr subiecți	Înălțimea (cm)	Domeniul de variație (cm)	Greutatea (kg)	Domeniul de variație (kg)
		$X \pm DS$		$X \pm DS$	
10	15	141,0 \pm 5,9	130-150	35,4 \pm 8,1	28-55
11	23	148,0 \pm 5,8	136-160	42,5 \pm 10,5	27-71
12	29	150,0 \pm 6,4	139-168	39,5 \pm 6,1	31-54
13	35	159,0 \pm 8,3	147-181	45,8 \pm 7,8	31-72
14	30	164,0 \pm 8,5	145-177	52,1 \pm 10,8	32-82
15	13	168,0 \pm 7,4	153-180	56,0 \pm 11,3	39-80
16	18	172,0 \pm 8,8	158-187	59,3 \pm 10,5	41-79
17	8	176,0 \pm 2,2	174-180	62,1 \pm 7,3	55-73
18	3	169,0 \pm 1,5	167-170	60,6 \pm 5,5	57-67

În cazul eșantionului n_1 s-au aflat valori medii mai reduse la grupa de vârstă de 18 ani (grupa fiind formată doar din trei persoane este nereprezentativă pentru asemenea măsurători). Valoarea individuală maximă pentru talie s-a constatat la 16 ani. În privința greutateii, se întâlnesc valori medii care oscilează până la grupa de vârstă de 13 ani, apoi crește până la grupa de vârstă de 17 ani. Greutatea maximă individuală s-a situat la grupa de vârstă de 14 ani, iar minima la grupa de vârstă 11 ani. Valorile individuale au crescut progresiv de la 11 ani la grupa de vârstă de 18 ani. Aceste variații prezintă interes pentru cercetările care urmăresc de fapt BMI pentru fiecare individ și respectiv mediile pe grupe de vârstă.

În cazul datelor somatometrice staturale și ponderale de la eșantionul de fete (n_2) rezultatele sunt prezentate în tabelul 4-2, tot pe grupe de vârstă.

Tabel 4-2. Date somatometrice staturale și ponderale la adolescenți din eșantionul care a inclus fete pe grupe de vârstă

Grupe de vârste (ani)	Număr subiecți	Înălțimea (cm)	Domeniul de variație (cm)	Greutatea (kg)	Domeniul de variație (kg)
		$X \pm DS$		$X \pm DS$	
10	14	140,0 \pm 7,2	130-151	35,0 \pm 6,3	28-49
11	33	147,0 \pm 5,8	138-160	38,0 \pm 8,5	29-73
12	45	151,0 \pm 6,2	136-169	42,0 \pm 8,1	30-68
13	26	156,0 \pm 5,1	146-166	46,0 \pm 7,1	36-67
14	37	158,0 \pm 6,2	145-167	54,0 \pm 12,0	35-87
15	36	160,0 \pm 6,1	149-172	53,0 \pm 10,0	35-84
16	26	157,0 \pm 7,2	144-170	54,0 \pm 9,0	39-81
17	16	162,0 \pm 4,8	156-175	58,0 \pm 7,2	42-70
18	18	164,0 \pm 7,0	154-187	58,0 \pm 10,0	47-84

Referitor la datele somatice staturale se observă doar o discontinuitate a valorilor medii – sub raportul relației înălțime-grupă de vârstă (justificată morfofiziologic) la grupa de vârstă de 16 ani. Valorile individuale sunt corespunzătoare cu grupele de vârstă. Rezultatele obținute prin somatometrie ponderală pe grupe de vârstă relevă valori medii crescânde până la 14 ani după care se observă o scădere la 15 ani, apoi o nouă creștere și valori medii identice la grupele de vârstă de 17 și 18 ani.

B. Evaluarea comparativă a eșantioanelor luate în studiu

Pentru a avea și o imagine grafică, comparativă a valorilor somatometrice referitoare la talia eșantioanelor de băieți și fete s-a calculat și elaborat fig. 4-1.

Se poate observa că în marea majoritate aceste valori medii sunt mai mari la băieți. Dacă la ambele eșantioane înălțimea subiecților este aproape identică la grupa de vârstă de 11 ani, la grupa de vârstă de 12 ani înălțimea subiecților din eșantionul n_1 este depășită de înălțimea subiecților din eșantionul n_2 . Cele mai mari diferențe de înălțime între subiecții celor două eșantioane se constată la grupele de vârstă de 16 și 17 ani, talia băieților depășind considerabil talia fetelor.

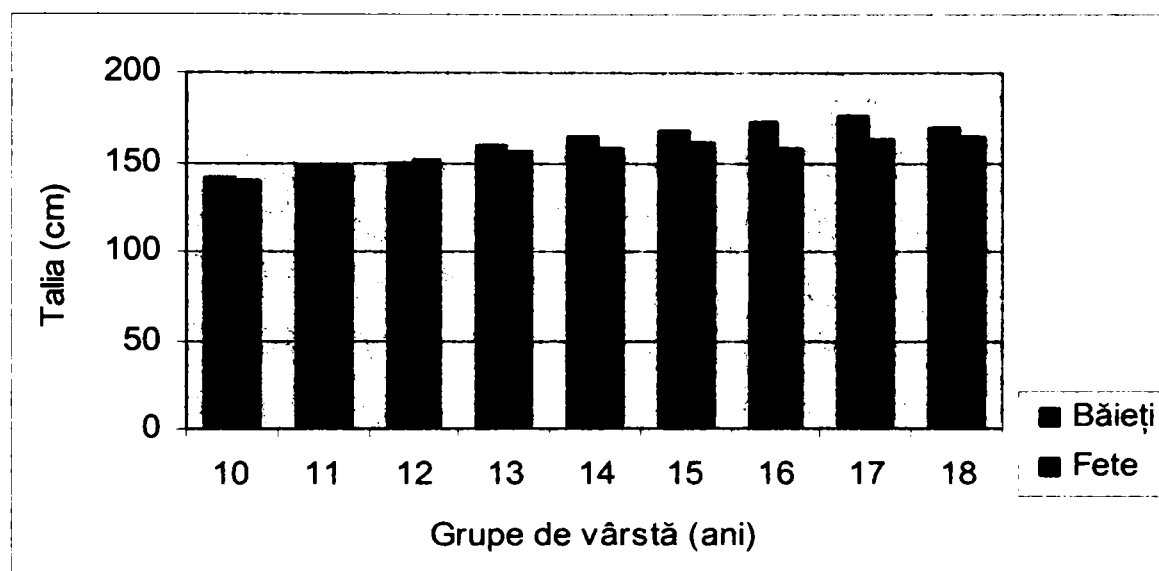


Fig.4-1. Histograma comparativă privind talia subiecților din eșantioanele n_1 și n_2 pe grupe de vârstă

Având același procedeu de estimare și reprezentare comparativă, bazat pe histograme este prezentat și în cazul valorilor rezultate prin somatometria ponderală (fig. 4-2).

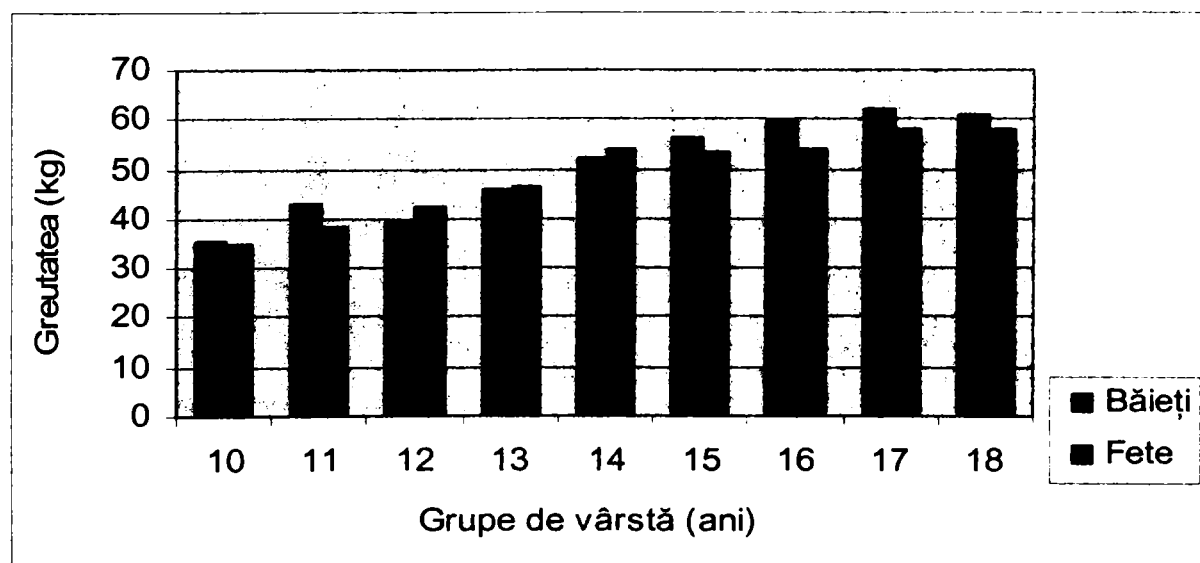


Fig.4-2. Histograma comparativă privind greutatea subiecților din eșantioanele n_1 și n_2 pe grupe de vârstă

Se poate observa că și greutatea subiecților din eșantionul n_1 este mai mare, la majoritatea grupelor de vârstă, decât a subiecților din eșantionul n_2 . Excepții reprezintă grupele de vârstă de 12, 13 și 14 ani.

Pe baza datele somatometrice menționate mai sus s-a putut determina BMI (indexul de masă corporală).

4.3. DETERMINAREA INDEXULUI DE MASĂ CORPORALĂ

Conceptul de Index de Masă Corporală – BMI (Body Mass Index) a fost elaborat de Adolphe Quételet (1796-1874) - astronom, matematician și statistician belgian. Quételet a aplicat teoria probabilităților în științele morale și politice și în antropometrie. Aplicațiile din domeniul antropometriei au făcut ca BMI să fie cunoscut inițial sub denumirea de „Index Quételet”.

Utilizarea acestui index a fost adoptată pe plan internațional, pentru evaluarea obezității la om. În general, cu referire la acest subiect se poate evidenția faptul că în decursul timpului numeroase organizații (instituții) care se ocupă de sănătate au folosit/folosesc diverse modalități de evaluare a „statusului ponderal”, cu încadrare în categorii (de risc, de evoluție etc.). În prezent BMI este preluat tot mai mult și devine „un criteriu” de evaluare comparativă a diverselor studii efectuate pe toate continentele. Date numeroase privind utilizarea BMI sunt redate în ghidurile elaborate de Centrul de Control al Bolilor și de Prevenție - CDCP (Center for Disease Control and Prevention) din SUA (Hammer et al., 1991; Pietrobelli et al., 1998).

4.3.1. PROCEDEUL DE CALCUL

Pentru cercetările aplicative, din evaluările somatometrice staturale și ponderale se poate proceda la determinarea Indexului de Masă Corporală – BMI pentru fiecare subiect după formula:

$$BMI = \frac{G}{T^2}$$

în care: G – greutatea corporală, în kg
T – talia (statura), în m

Se exemplifică un caz în acest sens. Pentru un adolescent de 17 ani s-a aflat greutatea corporală de 62 kg și talia de 1,75 m. Urmând formula de calcul de mai sus se va afla valoarea indexului:

$$BMI = \frac{62}{1,75^2} = 20.24$$

În cadrul determinărilor prezentate se menționează că, după calcularea valorilor BMI individuale în cadrul fiecărei grupe de vârstă din eșantioanele de băieți și fete, s-a procedat la determinarea valorilor medii \bar{X} și a deviației standard (DS). Datele au fost tabelate și expuse comparativ pe grupe de vârstă ale subiecților (tabel 4-3).

Tabel 4-3. Valori BMI comparative la adolescenții din eșantioanele n_1 și n_2 (sistemizare pe grupe de vârstă)

Grupe de vârstă (ani)	Eșantionul n_1 (băieți)		Eșantionul n_2 (fete)		$\Delta \bar{X}$ $(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)$
	n_1	$\bar{X}_1 \pm DS$	n_2	$\bar{X}_2 \pm DS$	
10	15	17,75 \pm 3,14	14	17,50 \pm 2,56	- 0,25
11	23	19,19 \pm 3,74	33	17,52 \pm 3,13	- 1,67
12	29	17,59 \pm 2,24	45	18,47 \pm 2,87	+ 0,88
13	35	18,11 \pm 2,04	26	19,05 \pm 2,81	+ 0,94
14	30	19,30 \pm 2,84	36	21,38 \pm 4,16	+ 2,08
15	13	19,85 \pm 3,29	36	20,63 \pm 3,64	+ 0,78
16	18	19,97 \pm 2,18	25	21,72 \pm 3,09	+ 1,75
17	8	19,95 \pm 2,16	16	22,10 \pm 2,44	+ 2,15
18	3	21,30 \pm 1,64	18	21,47 \pm 3,20	+ 0,17

Datele obținute au servit și la trasarea histogramelor pentru valorile medii ale diferitelor eșantioane de subiecți - fig.4-3. Se evidențiază relația între BMI și vârstele subiecților. Evident nu se poate exclude gruparea pe vârste.

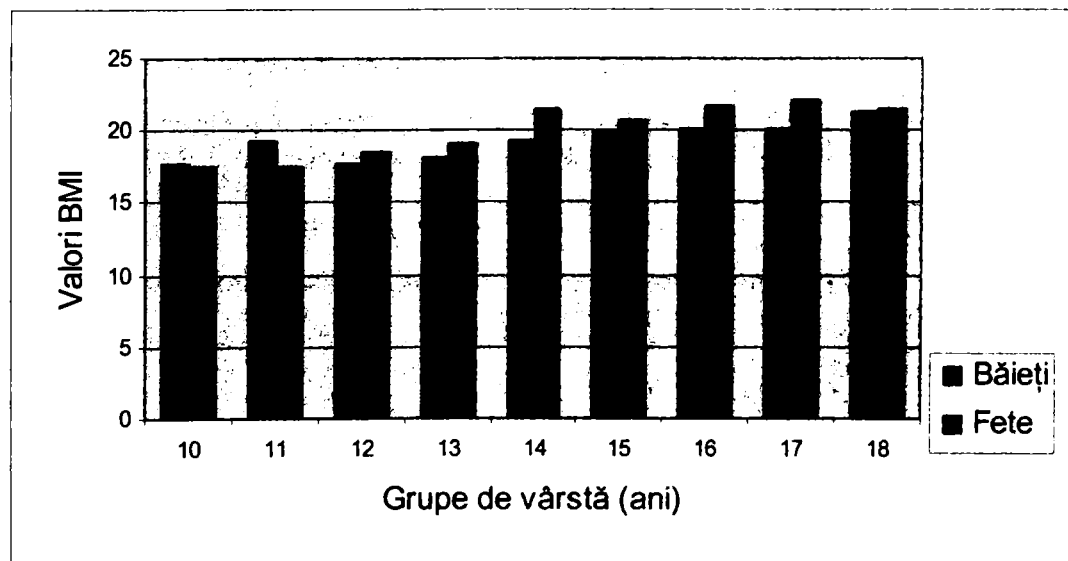


Fig. 4-3. Histograma valorilor BMI la eșantioanele n_1 și n_2 raportate pe grupe de vârstă

Din histograma de mai sus se observă că BMI la subiecții din eșantionul n_1 este mai scăzut față de valorile medii ale subiecților din eșantionul n_2 . Valori mai crescute ale BMI la băieți sunt observate doar la grupele de vârstă de 10 și 11 ani.

Se menționează că în literatura de specialitate există și studii întreprinse în domeniul medicinei dentare prin care s-au urmărit la adolescenți relația între obezitate și inflamațiile gingivale. S-a arătat că procentul leziunilor periodonțiului sunt crescute în funcție de adipozitatea subiecților – deci, într-o relație de directă proporționalitate (Saito et al., 2001).

Remarcabile sunt și cercetările întreprinse de Larson et al. (1995) asupra unor subiecți de 15 ani la care s-au evaluat cariile dentare, raportându-se la indexul de masă corporală (BMI). În aceste studii, efectuate într-o regiune din nordul Suediei, s-a aflat că există o prevalență mai mare a cariilor în cazul unei valori ale BMI > 25, considerat deja în zonă de risc pentru boli cardiovasculare. Într-o altă cercetare, coordonată tot de Larson (1997), au fost efectuat și măsurători ale tensiunii arteriale, acestea evidențiind valori crescute, în relație de directă proporționalitate, cu prezența cariilor dentare la subiecții luați în studiu. Pentru a avea date mai elocvente privitoare la riscul pentru boli cardiovasculare s-au urmărit și date analitice de chimie clinică și anume principalele fracțiuni lipidice sanguine: colesterolul și triacilgliceridele. În aceste circumstanțe studiul a vizat și aspectele de patologie biochimică. Evident, și sub aspect biochimic s-a confirmat existența unei relații de directă proporționalitate între cariile dentare și valorile crescute ale colesterolemiei și trigliceridemieii. S-a conchis că dislipidemia, recte fracțiunile lipidice sanguine probează pentru predicția în relație cu riscul la boli cardiovasculare (Larson et al., 1997).

Problema greutateii corporale, a importanței reducerii acesteia și prin aceasta diminuarea valorilor analitice (stabilite prin metodele chimiei clinice) ale fracțiunilor lipidice și lipoproteice a constituit, și constituie, un subiect de interes major pentru biochimia medicală, chimia alimentară, chimia clinică și patologia biochimică (Gustafson-Larson și Terry, 1992; Garban et al., 2006). Corelarea aspectelor biomedicale cu aspectele patobiochimice este estimată ca o „meta-analiză” de către Dattilo și Kris-Etherton (1992). Evident, această modalitate de formulare urmărește integrearea conceptelor care interesează diversele aspecte de chimie clinică – nutriție – biochimie și urmărește explicitarea efectelor consecutive dishomeostaziei biochimice.

În relație cu greutatea corporală, ca și componentă a calculului BMI, se discută frecvent și utilizarea mijloacelor chimiei farmaceutice în supresarea apetitului alimentar. Există studii direcționate pe diverse produse medicamentoase chimioterapice. Se menționează în acest sens doar un studiu, remarcabil nu prin anvergura temei, nici prin abordarea țintită a efectelor, ci prin discutarea relației uz-abuz - importantă în farmacologie dar, mai ales în xenobiochimia produselor medicamentoase utilizate în chimioterapia obezității.

Modalitățile de calcul și evaluare pentru BMI la copii și tineri cu vârste între 2-20 ani au fost elaborate de Centrul de Control al Bolilor și de Prevenire (CDCP). Principiile de bază

și diagramele elaborate în cadrul programelor CDCP au fost utilizate și în această lucrare. Unele dintre datele calculate sunt prezentate în subcapitolul următor.

Literatura de specialitate evidențiază faptul că, calcularea BMI la copii și tineri cu vârste între 2-20 ani, elaborată de CDCP a fost adoptată ulterior și de WHO (Hammer et al., 1991; Pietrobelli et al., 1998).

4.3.2. EVALUAREA SUBIECȚILOR DIN EȘANTIOANE ÎN RELAȚIA BMI – VÂRSTĂ

În literatura de specialitate se arată că BMI este uzitat pentru a evalua situația care definește stările de subponderabilitate; pondere normală; riscul de supraponderabilitate; superponderabilitate.

Pentru copii și adolescenți există un procedeu „standardizat al curbelor în percentile” care utilizează Indexul de Masă Corporală specific (Hammer et al., 1991), stabilind în final statusul ponderal al subiecților .

Pornind de la curbele standard, cunoscând Indexul de Masă Corporală (BMI) se poate măsura adipozitatea (Pietrobelli et al., 1998). Procedeele acestea pornesc de la cercetări efectuate în mare măsură în ultimul deceniu. Rațiunea acestora este de-a se realiza o evaluare predictivă a datelor cuantificabile privind adipozitatea corporală pentru corelare cu rezultatele analizelor pentru lipide și lipoproteine sanguine. Astfel de studii populaționale au arătat că adipozitatea și dislipidemia care însoțește această stare conduc ulterior la boli cardiovasculare (Chung, 1990; Gray și Fujioka, 1991; Harrell et al., 1998; Freedman et al., 1999; Karelis et al., 2004)

Se face caracterizarea valorilor BMI în raport cu atributele ponderale specifice individului în funcție de valorile date de nomograme pentru percentile (tabel 4-4). Se observă că există o relație directă între statusul ponderal și valorile percentilelor.

Tabel 4-4. Valori ale BMI care caracterizează statusul ponderal

Specificare	Valori din nomogramă (percentile)
Subponderal	< 5
Normoponderal	5 – 85
Risc de supraponderabilitate	85 – 95
Supraponderabilitate	≥ 95

Astfel de calcule se pot efectua pentru tineri (copii și adolescenți) – după curbele standard date în nomograme (Hammer et al., 1991). Există nomograme speciale pentru băieți și fete.

Evaluarea datelor în percentile pentru relația BMI - vârstă a fost acceptată în SUA și promovată de Centrul Național pentru Statistică și Sănătate, în colaborare cu Centrul Național

pentru Prevenirea Bolilor Cronice și Promovarea Sănătății ([http: www.cdc.gov/growthcharts](http://www.cdc.gov/growthcharts) - 2006). Datele referitoare la percentile sunt expuse în nomograme speciale.

Nomograma în relația BMI-vârstă pentru băieți este prezentată în fig.4-4. Aceasta este elaborată pentru primele două decade de viață (2-20 ani) și permite încadrarea subiecților studiați.

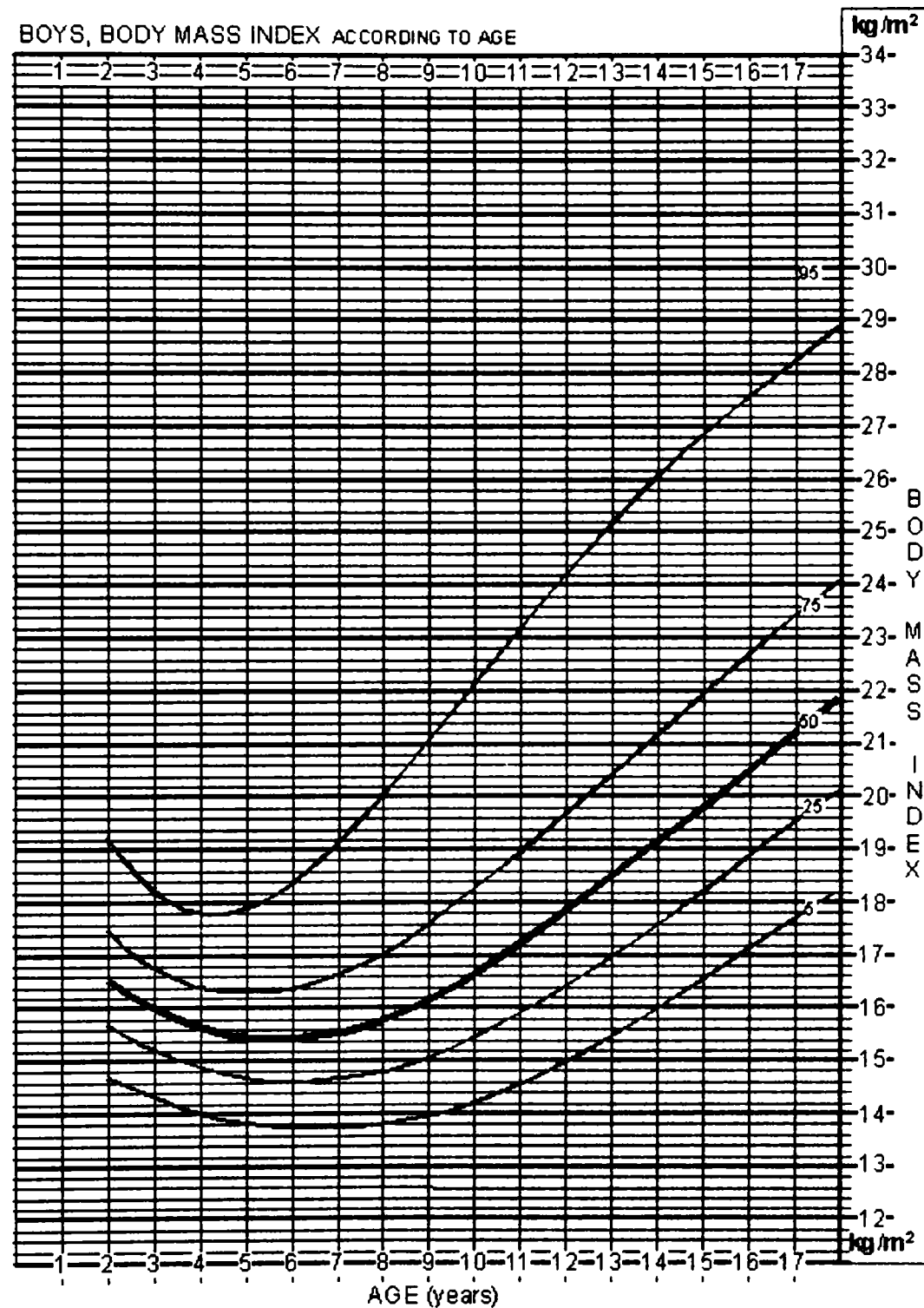


Fig.4-4. Diagrama distribuției percentilelor cu evidențierea domeniului normal și a stărilor de risc la băieți (după MacKay et al., 2000)

În cercetările efectuate s-a procedat la evaluarea datelor în percentile pentru relația index de masă corporală (BMI) – vârstă. Evident acestea s-au urmărit pe nomograme standard concepute special pentru băieți și fete – perioada de adolescență.

În tabelul 4-5 sunt redate detalii privind încadrarea subiecților din eșantionul n_1 prin evaluare în percentile, bazat pe relația BMI-vârstă (engl. BMI-for-age).

Tabel 4-5. Caracteristicile relației BMI – vârstă la băieți (evaluare în percentile)

Grupe de vârstă (ani)	Număr subiecți	Gruparea subiecților (criteriu percentile)			
		< 5	5 - 85	85 - 95	> 95
10	15	0	12	1	2
11	23	2	15	3	3
12	29	3	23	3	0
13	35	4	28	3	0
14	30	4	24	1	1
15	13	2	9	2	0
16	18	1	16	1	0
17	8	1	7	0	0
18	3	0	3	0	0
Total	174	17	137	14	6

Se poate remarca faptul că 17 subiecți (9,77%) se încadrează la categoria sub 5 percentile, adică subponderali, 6 subiecți (3,44%) supraponderali, 14 subiecți cu predispoziție de a deveni supraponderali și 137 subiecți (78,73%) normoponderali.

Reprezentarea prin histogramă a valorilor percentilice BMI- vârstă la eșantionul de băieți este redată în fig.4-5, cu evidențierea datelor absolute (număr subiecți) și relative (procente).

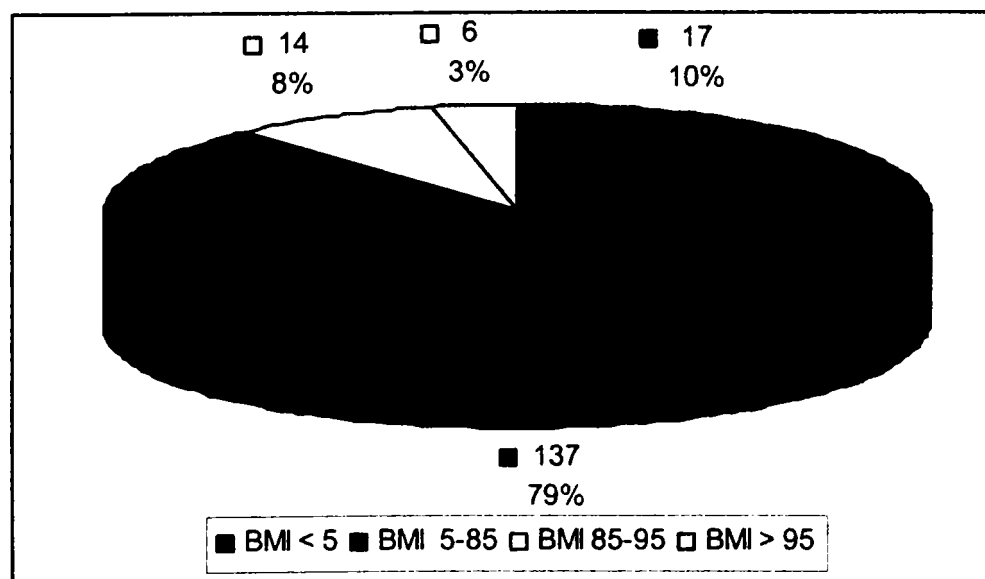


Fig.4-5. Repartiția subiecților din eșantionul n_1 în funcție de valorile percentilice ale BMI

S-a procedat similar în cazul fetelor. Nomograma generală privind relația BMI-vârsta pentru fete este dată în fig.4-6.

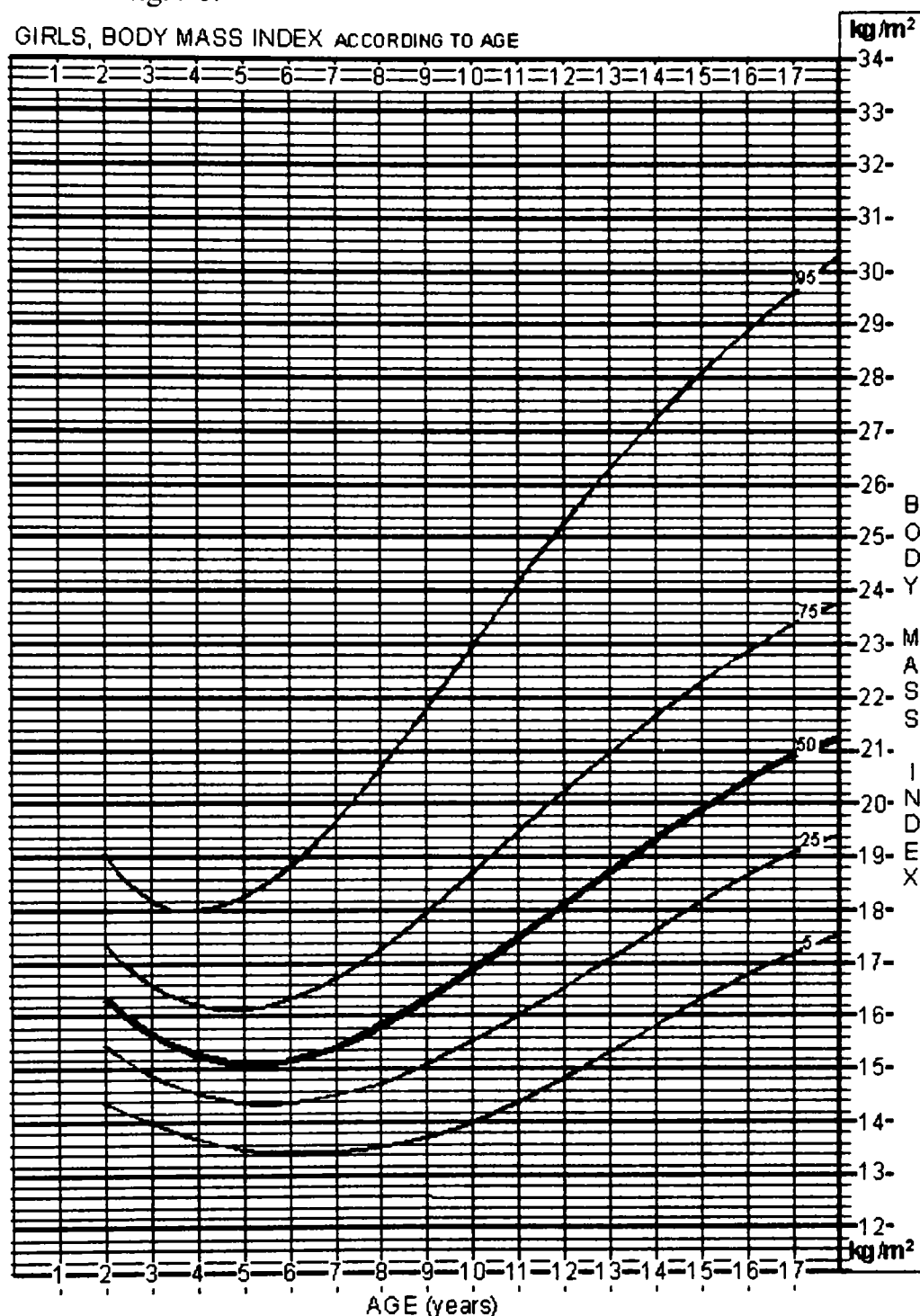


Fig.4-6. Diagrama distribuției percentilelor cu evidențierea domeniului normal și a stărilor de risc la fete (după MacKay et al., 2000)

Aceasta este diagrama generală pentru evidențierea specificului de lucru. Pentru încadrarea datelor obținute la subiecții cercetați s-au utilizat diagrame detaliate.

Din evaluarea datelor, pentru numărul de 249 fete – reprezentând eșantionul n_2 s-a obținut următoarea distribuție: 12 subiecți (4,8%) subponderali, 12 subiecți (4,8%) supraponderali, 16 subiecți (6,42%) cu predispoziție de a deveni supraponderali și 209 subiecți (83,93%) normoponderali – tabel 4-6.

Tabel 4-6. Caracteristicile relației BMI – vârstă la eșantionul de fete (evaluare în percentile)

Grupe de vârstă (ani)	Număr subiecți	BMI (percentile)			
		< 5	5 - 85	85 - 95	> 95
10	14	0	13	0	1
11	33	1	30	1	1
12	45	3	35	6	1
13	26	0	24	1	1
14	36	1	26	5	4
15	36	3	29	2	2
16	25	1	22	1	1
17	16	1	15	0	0
18	18	2	15	0	1
Total	249	12	209	16	12

Se poate conchide că majoritatea subiecților din eșantion au fost normoponderali, dar în zona de hipoponderalitate respectiv hiperponderalitate se situează același număr de subiecți. Majoritatea subiecților din cele două extreme sunt din grupele de vârstă de 15-18 ani la cei hipoponderali și grupa de 10-16 ani la hiperponderali.

Histograma repartiției în funcție de nomogramelor percentilice pentru subiecții din eșantionul de fete n_2 se redă în fig. 4-7. Și în acest caz evaluarea datelor, s-a făcut în date absolute (număr subiecți) și relative (procente).

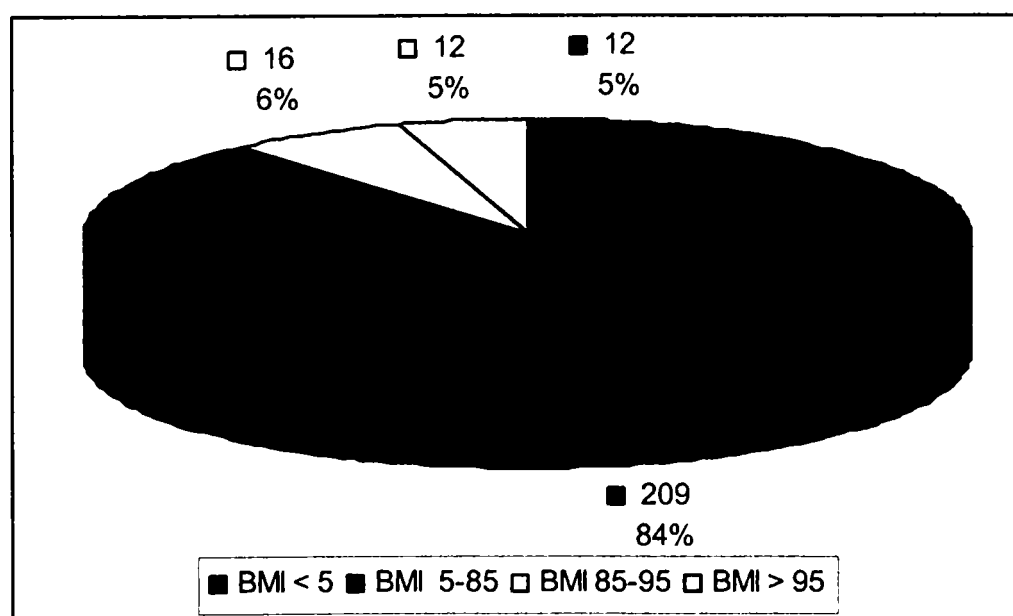


Fig.4-7. Repartiția subiecților din eșantionul n_2 în funcție de valorile percentilice ale BMI

În cazul unei comparații a datelor percentilice la cele două eșantioane (tabel 4-7) putem constata că numărul subiecților din eșantionul n_1 cu BMI sub 5 percentile este de două ori mai mare (9,77%) decât la subiecții din eșantionul n_2 (4,88%) . La eșantionul n_2 numărul subiecților subponderali și supraponderali este identică.

Tabel 4-7. Distribuția valorilor în percentile ale Indexului de Masă Corporală (BMI) la eșantioanele n_1 și n_2

Grupe de vârstă (ani)	BMI (percentile) la eșantionul n_1					BMI (percentile) la eșantionul n_2					Total general
	< 5	5-85	85-95	> 95	Total	< 5	5-85	85-95	> 95	Total	
10	0	12	1	2	15	0	13	0	1	14	29
11	2	15	3	3	23	1	30	1	1	33	56
12	3	23	3	0	29	3	35	6	1	45	74
13	4	28	3	0	35	0	24	1	1	26	61
14	4	24	1	1	30	1	26	5	4	36	66
15	2	9	2	0	13	3	29	2	2	36	49
16	1	16	1	0	18	1	22	1	1	25	43
17	1	7	0	0	8	1	15	0	0	16	24
18	0	3	0	0	3	2	15	0	1	18	21
Total	17	137	14	6	174	12	209	16	12	249	423

La grupa de vârstă de 10 ani majoritatea subiecților din ambele eșantioane se încadrează în statusul ponderal normal, adică percentile între 5 și 85. La eșantionul n_1 cei mai mulți subiecți supraponderali se găsesc la grupa de vârstă de 11 ani, iar la eșantionul n_2 la grupa de vârstă de 14 ani. Cu risc mare de hiperponderalitate la eșantionul n_1 prezintă cei mai mulți subiecți din grupele de vârstă de 11-13 ani. La eșantionul n_2 acest risc se situează în mare parte la subiecții din grupele de vârstă de 12 ani, urmat de grupa de vârstă de 14 ani, apoi 15 ani.

Predispoziția spre supraponderalitate este mai crescută la subiecții din eșantionul n_1 decât din n_2 . Numărul subiecților care prezintă date defavorabile pentru obezitate este mai mare la eșantionul n_2 decât la n_1 .

4.4. SINDROMUL METABOLIC ȘI DISHOMEOSTAZIA BIOCHIMICĂ

Caracterul predictiv al așa numitului „sindrom metabolic” al factorilor de risc, a permis evidențierea faptului că dislipidemia și dislipoproteinemia, precum și hiperinsulinismul (independent sau în asociație cu tulburările metabolice menționate) conduc la hipertensiune arterială și diabet zaharat (Rocchini, 1993; Rääkkönen et al., 2003; Weiss et al., 2004). Sindromul metabolic se poate manifesta din perioada de copilărie și/sau adolescență. În cercetările întreprinse de Rääkkönen et al. (2003) subiecții participanți la studiu au fost clasificați în două grupe: a) fără sindrom metabolic; b) cu sindrom metabolic. Această clasificare s-a făcut în funcție de prezența a doi sau mai mulți factori de risc (în funcție de vârstă, sex, rasă) pentru fiecare parametru în parte, deci TAG și HDL-COL.

Raportul TAG/HDL-COL ca o modalitate de evaluare a statusului homeostaziei biochimice a lipidelor și lipoproteinelor este utilizat ca și indice al dislipidemiei (Reaven, 1988).

În rândul copiilor și adolescenților avansarea leziunilor aterosclerotice este accelerată de modificări homeostazice: creșterea lipidelor și lipoproteinelor serice, creșterea nivelului insulinei. Sub aspect biomedical se sesizează, în general, hipertensiunea, creșterea în greutate.

Obezitatea și malnutriția reprezintă în ultima decadă cauza numărului unu al morbidității și mortalității legate de nutriție. Comportamentele adulților asociate cu prevalența crescută a factorilor de risc sunt dobândite din perioada copilăriei, inclusiv obiceiurile alimentare, lipsa practicarea exercițiilor fizice și fumatul (Mo-Suwan și Lebel, 1996; Eriksson et al., 2001; Eckel et al., 2005).

S-a demonstrat că o alimentație neadecvată, lipsa exercițiilor fizice, obezitatea, hiperlipoproteinemia, hipertrigliceridemia, tensiunea arterială crescută sunt corelate pozitiv cu leziunile aterosclerotice la tineri (Kannel et al., 1979; Krebs-Smith et al., 1996; Neumark et al., 1996; Story et al., 1998; Nicklas et al., 2001).

Acumularea factorilor de risc cardiovasculari cuprinzând sindromul metabolic începe din copilărie, crește odată cu vârsta și persistă din copilărie până la adult (Mahoney et al., 1996; Harrell et al., 1999). Primii determinanți ai sindromului metabolic sunt cei ereditari, greutatea scăzută la naștere, îngrășarea și obezitatea în copilărie, tulburări endocrine, pubertate precoce, alimentație excesivă hipocalorică, sedentarism (Irwin, 1991; Gordon-Larsen et al., 1999; Crespo et al., 2001; Sallis et al., 2001; Saar et al., 2003; Huang et al., 2004; Graf et al., 2005).

Obezitatea este un determinant important al bolilor cardiovasculare dar și al altor aparate (Riley et al., 1976). Studii epidemiologice anterioare privind obezitatea au relevat asocierea “moderată” a obezității și riscului cardiovascular, în special la tineri (Wilmore și McNamara, 1974; Harrell et al., 1999; Newman și Garber, 2000. La origine se află, în principal, perturbarea homeostaziei biochimice a lipidelor și lipoproteinelor. În ultimele decenii s-au raportat modificări esențiale în ceea ce privește greutatea copiilor și tinerilor, problema trebuie reconsiderată (Aristimuno et al., 1984; Webber et al., 1991; Krauss et al., 1998; Sinaiko et al., 1999). Se evidențiază, în general, prevalența în creștere a obezității la copii

generează îngrijorare. S-a arătat că 20 % din copiii de 6-17 ani au BMI peste 85 percentile și 10 % din copiii de 6-17 ani sunt supraponderali având BMI peste 95 de percentile. Se pare că 50% din adulții obezi au prezentat obezitate încă din copilărie.

Există și o determinare genetică a obezității care face trimitere la modificările homeostaziei biochimice (Johnson, 1975; Barlow și Dietz, 1998; Kolbe et al., 2000; Saar et al., 2003). Factorii de risc cardiovasculari, cum sunt: TAG – crescute și LDL-COL crescut, HDL-COL scăzut la adult și hipertensiunea arterială, rezultă din copilărie. Copiii proveniți din familii cu boli cardiovasculare dezvoltă mai frecvent boala decât un copil fără antecedente familiale de boli cardiovasculare (Epstein et al., 1985; Bray, 1993; Guo, 2000; Davidson și Birch, 2001). Tensiunea arterială crește odată cu creșterea greutateii și scade odată cu scăderea greutateii.

Există și o determinantă non-genetică a obezității în care principalii factori cauzali sunt: obiceiurile alimentare, activitate fizică redusă. Obezitatea este răspunsul fiziologic normal la un mediu în care aportul energetic depășește nevoile energetice ale organismului. Este un mecanism de adaptare: la disponibilitățile alimentare crescute, la sedentarism. Obezitatea se poate dezvolta în cazul în care există un dezechilibru între aportul și consumul energetic.

Metabolismul lipoproteinelor este influențat profund de obezitate. Creșterea greutateii corporale determină modificări ale homeostaziei biochimice prin creșterea nivelului de triacilgliceride, LDL-COL și scăderea nivelului sanguin al HDL-COL. Scăderea în greutate atrage după sine scăderea nivelului seric al TAG, TC, LDL-COL și creșterea HDL-COL. Schimbările nivelului HDL-COL sunt mai evidente la sexul feminin, comparativ cu sexul masculin (Masoro et al., 1983; Patsch et al., 1987; Tall, 1990; Krauss et al., 1998).

Asocierea LDL-COL cu obezitatea este mai complexă. Concentrația LDL-COL crește cu BMI la bărbați, și nu este așa de pronunțată la femei. Creșterea BMI este asociată cu LDL-COL cu rol aterogen. Obezitatea centrală la femei este asociată cu concentrații crescute de LDL-COL.

Problemele relației existente între BMI, obezitate și dislipidemii – dislipoproteinemii este larg discutată în literatura de specialitate (Laskarzewski et al., 1980; Stunkard et al., 1990; Tienboon et al., 1992; Guo și Chumlea, 1999; Brown et al., 2000; He et al., 2000; Wang et al., 2000; Wisenmandle et al., 2000; Guo et al., 2002; Katzmarzyk et al., 2004 ș.a.). Datele expuse în publicațiile din acest domeniu, unele menționate mai sus, pledează pentru importanța teoretică și aplicativă a problemelor de cronobiochimie cu implicații în patologie abordată și în lucrarea de față.

Consecințele obezității asupra sănătății adultului sunt deja bine cunoscute, vor apare hipertensiunea arterială, diabetul zaharat non-insulinodependent și boli cardiovasculare (Falkner și Michel, 1999). Obezitatea din copilărie va contribui semnificativ la dezvoltarea de boli cardiovasculare la adult.

Ateroscleroza este un proces patologic complex caracterizat prin distrugerea fibrelor elastice ale pereților arteriali, înlocuirea lor cu fibre conjunctive colagene (scleroză), depunere de colesterol și săruri de calciu cu formare de ateroame.

Ateromul este leziunea histologică care, are la origine injuria biochimică, întâlnită în evoluția aterosclerozei, constituită dintr-un depozit lipidic extracelular situat în intima arterială care predomină sub forma unei plăci subendoteliale. Consistența ateromului variază

în funcție de raportul dintre „materialul lipidic” și „materialul fibros”. În evoluția ateromului se poate fibroza formând un fibroaterom, se poate calcifica și în ultimă instanță, ulcera.

Sindromul metabolic se definește prin prezența a cel puțin trei dintre următorii cinci factori de risc, la o persoană: obezitatea centrală sau abdominală, hipertriacilgliceridemie, hipertensiune arterială, HDL-COL scăzută, glicemie à jeun crescută. Sindromul metabolic este un factor de risc major pentru boli cardiovasculare și diabet zaharat de tip 2 - adică diabetul non-insulinodependent (Jessup și Harrel, 2005).

Componente al sindromului metabolic sunt prezente nu numai la adulți, se pot decela, de asemenea, și la copii și adolescenți. Circumscrierea definirii la copii și la adolescenți este mai dificilă din cauza modificărilor de creștere și dezvoltare a acestui segment de populație. Acest fapt face necesară evaluarea, în dinamica evolutivă a valorilor TAG, TC, HDL-COL, LDL-COL în cazul subiecților care prezintă predispoziție pentru dislipidemie confirmată și prin modificările BMI.

4.4.1. EVALUAREA GRAFICĂ A DATELOR COMPARATIVE PRIVIND BMI-FRAȚIUNI LIPIDICE LA EȘANTIOANELE STUDIASTE

În etapa următoare a tezei am urmărit repartiția valorilor medii pentru fiecare parametru lipidic și lipoproteinic determinat la cele două eșantioane studiate raportat la BMI – vârstă - valori percentilice.

Astfel, în fig.4-8 sunt redată variațiile triacilgliceridemie la subiecții celor două eșantioane. Se poate observa că valorile medii ale acestui parametru sunt mai crescute la eșantionul de fete, indiferent de statusul ponderal în care au fost încadrate (prin evaluare în percentile), cu excepția subiecților supraponderali.

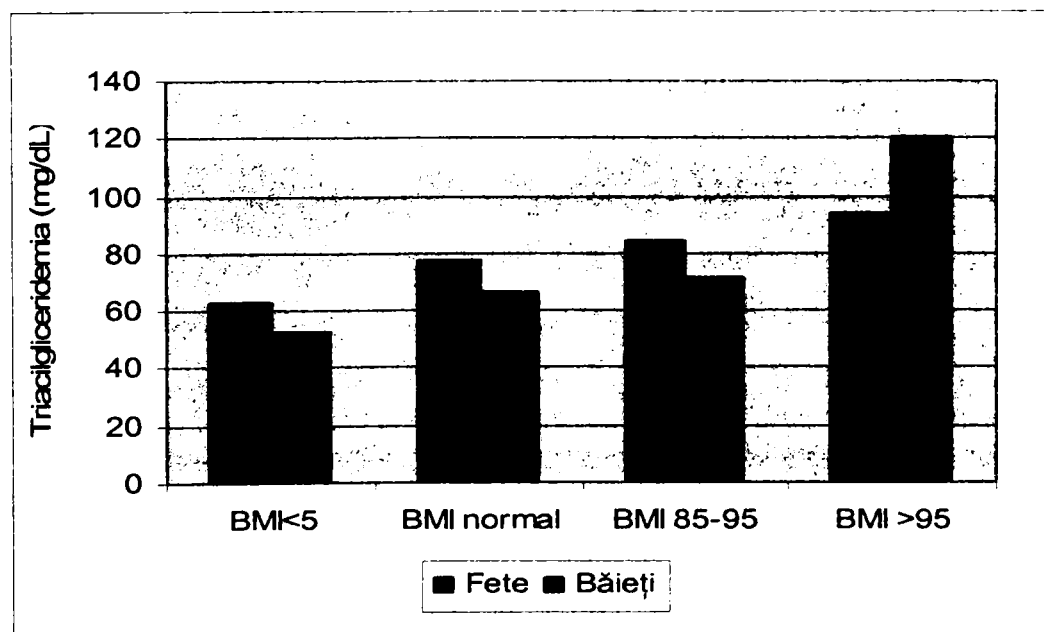


Fig.4-8. Variații ale triacilgliceridemie la subiecții celor două eșantioane în funcție de încadrarea percentilică a BMI

În fig.4-9 sunt ilustrate variațiile colesterolemiei în funcție de încadrarea percentilică a BMI. Se observă valori mai mari la eșantionul de fete în raport cu eșantionul de băieți cu excepția subiecților supraponderali, unde se poate constata o valoare mai crescută la eșantionul de băieți.

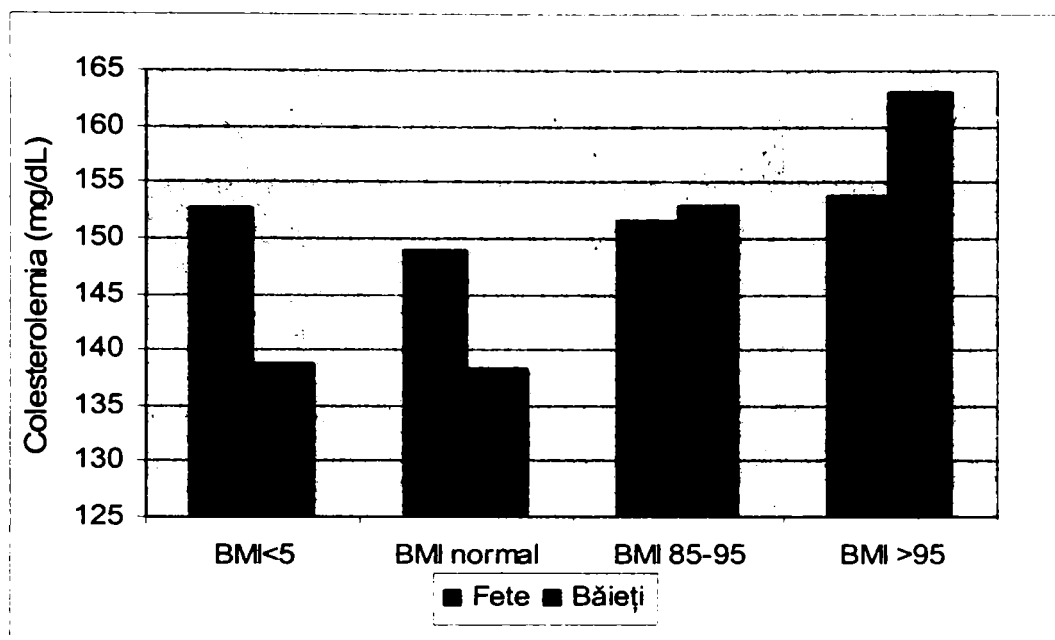


Fig.4-9. Variații ale colesterolemiei la subiecții celor două eșantioane în funcție de încadrarea percentilică a BMI

În final, putem conchide că atât triacilgliceridemia cât și colesterolemia au valori mai crescute la subiecții eșantionului n_2 cu excepția supraponderalilor (subiecți cu peste 95 percentile BMI).

4.4.2. EVALUAREA GRAFICĂ A DATELOR COMPARATIVE PRIVIND BMI-FRAȚIUNI LIPOPROTEINICE LA EȘANTIOANELE STUDIAȚE

Asemănător s-a procedat și în cazul fracțiunilor lipoproteinice. În acest sens valorile medii ale HDL-colesterolemiei în raport cu încadrarea percentilică a BMI – redate în fig.4-10 arată valori mai crescute la eșantionul de fete comparativ cu eșantionul de băieți. Doar în cazul subiecților din n_1 care s-au încadrat în valorile percentilice de peste 85, valorile HDL au fost depășite de băieți.

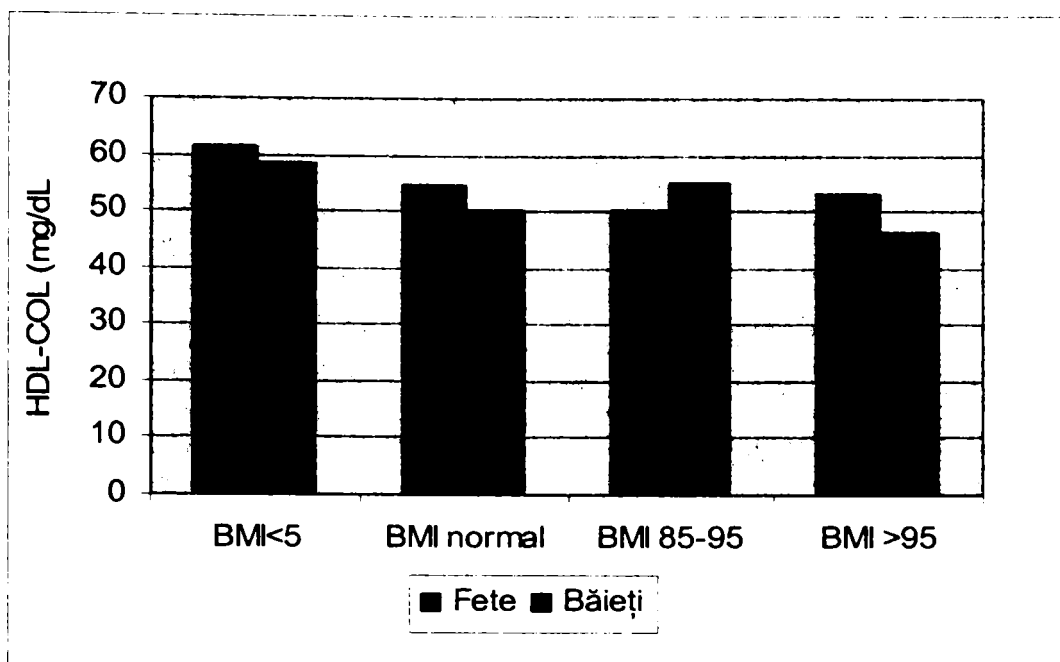


Fig.4-10. Variații ale HDL-colesterolemiei la subiecții celor două eșantioane în funcție de încadrarea percentilică a BMI

Valorile medii ale LDL-colesterolemiei în raport cu încadrarea percentilică a BMI – sunt redată în fig.4-11. Se pot observa valori mai crescute la eșantionul de fete comparativ cu eșantionul de băieți. La fel ca și pentru HDL-colesterol doar băieții care s-au încadrat în valorile percentilice de peste 85, valorile LDL-colesterolemiei au fost mai crescute decât la fete.

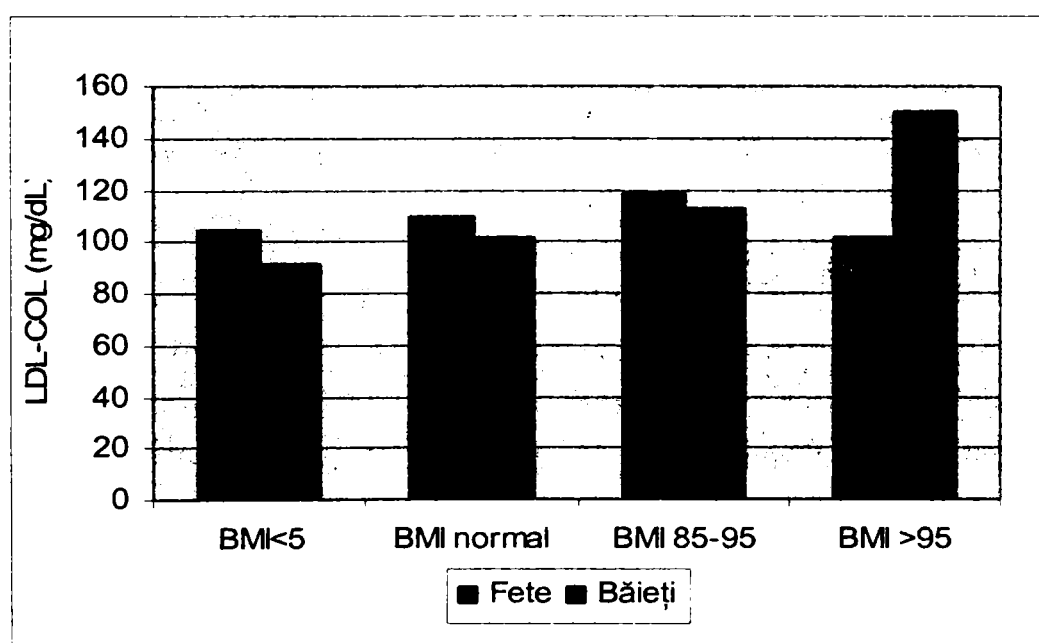


Fig.4-11. Variații ale LDL-colesterolemiei la subiecții celor două eșantioane în funcție de încadrarea percentilică a BMI

Numărul subiecților supraponderali și cu risc de supraponderabilitate, în cazul studiului nostru, a fost de 20 subiecți din eșantionul n_1 (băieși) și 28 subiecți din eșantionul n_2

(fete). Valorile medii ale fracțiunilor lipidice și lipoproteice serice pentru acești subiecți sunt redate în tabelul 4-8.

Tabel 4-8. Valorile medii ale fracțiunilor lipidice și lipoproteice la subiecții din ambele eșantioane cu BMI 85-95

Specificare	UM	Băieți		Fete		ΔX ($X_1 - X_2$)
		n_{n1}	$X + DS$	n_{x2}	$X + DS$	
Triacilgliceride (TAG)	mg/dL	20	87,44+43,28	28	88,34+58,55	- 0,90
Colesterol (COL)			156,28+ 26,62		152,38+27,08	+ 3,90
HDL-COL			51,94+15,71		51,31+11,41	+ 0, 63
LDL-COL			121,82+35,59		118,74+36,2	+ 3,08

Din datele prezentate rezultă că valorile medii ale lipidelor și lipoproteinelor serice determinate sunt mai crescute la băieți decât la fete.

În unele cazuri patologice, cum ar fi și sindromul Down se efectuează măsurători antropometrice care au rol predictiv în definirea profilului lipidelor serice la adult. Un astfel studiu efectuat de Ordoiez-Munoz et al. (2005) asupra unui număr de 21 adolescenți cu sindrom Down a urmărit determinarea unor variabile antropometrice, cum ar fi BMI, circumferința taliei, raportul circumferința talie/șold, precum și valorile serice ale colesterolului total, HDL-COL și TAG. Rezultatele au relevat o asociere pozitivă a datelor antropometrice cu valorile T-COL și TAG și negativă cu valorile HDL-COL.

Datele corelative referitoare la lipide serice (triacilgliceridemia, colesterolemia) și lipoproteine serice (HDL-colesterolemia și LDL-colesterolemia) expuse în relație cu indicele de masă corporală și categorii percentilice sunt obiective urmărite în chimia clinică, în biochimie și patologia biochimică.

Astfel de rezultate, la care desigur se adaugă și explorări funcționale (tensiune arterială, electrocardiografie) și investigații hematologice (hematii, leucocite etc.) sunt apoi asociate evaluării riscului apariției bolilor cardiovasculare. Dacă rolul și contribuțiile lucrărilor de cercetare în biochimie și patobiochimie se limitează la interpretarea datelor primare, asociind informațiile privind explorările funcționale și investigațiile hematologice, abordarea complexă a problemelor de medicină preventivă și curativă sunt de competența specialiștilor în aceste domenii.

CONCLUZII

Investigarea homeostaziei biochimice a lipidelor și lipoproteinelor serice la om interesează biochimia și chimia clinică pentru considerentul că acești compuși chimici se află la originea mecanismelor patobiochimice specifice proceselor de aterogeneză.

1. Studiul homeostaziei este asociat cu patologia biochimică și clinica bolilor cardiovasculare. La subiecții adulți se urmărește corelarea cu statusul morfofiziologic și eventual cu diagnosticul și prognosticul. La subiecții tineri – în perioada copilăriei și adolescenței – investigarea homeostaziei lipidelor și lipoproteinelor are caracter predictiv în raport cu apariția bolilor cardiovasculare. Datele se pot utiliza în scop preventiv. Cercetările prezentate s-au efectuat pe două eșantioane de adolescenți reprezentate astfel: eșantionul (n_1) – 174 băieți; eșantionul (n_2) – 249 fete. În cadrul eșantioanelor menționate s-au inclus 9 grupe de vârstă extinse pe perioada adolescenței 10 – 18 ani.
2. Aplicațiile biochimiei în evaluarea statusului metabolismului lipidic se pot corela cu date antropometrice (somatometria staturală – urmărind talia subiecților și somatometria ponderală – urmărind greutatea acestora). Rezultatele investigațiilor biochimice și somatometrice se pot interpreta prin mijloacele statisticii matematice (în biologie și medicină fiind acreditat termenul de "biostatistică"). În afară de determinările statistice privind media (X) și deviația standard (DS) pentru lipide și lipoproteine, s-a stabilit și Indexul de masă corporală – B.M.I. (Body Mass Index) – o mărime curent utilizată pentru corelarea datelor biochimice cu datele antropometrice.
3. Investigarea lipidelor serice oferă informații privind: modificările homeostaziei biochimice; limitele analitice specifice grupelor de vârstă; statusul dishomeostazic la unii subiecți care prezintă un potențial factor de risc patologic. În acest sens se discută separat rezultatele privind valorile serice ale triacigliceridelor (TAG) și colesterolului total (T-COL).
 - 3.1. În cazul TAG serice s-a constatat că la subiecții din eșantionul de băieți valorile acestea au avut limite de la 24,0 - 262,0 mg/dL. Pe grupe de vârstă cea mai crescută

valoare medie (86,0) s-a decelat la grupa de vârstă de 11 ani. În cazul eşantionului de fete valorile limită ale TAG au fost de 25,0 – 259,0 mg/dL, iar valoarea medie cea mai crescută (91,5 mg/dL) s-a aflat la grupa de vârstă de 19 ani. Pentru mediile TAG comparative dintre eşantioanele luate în studiu, cea mai mare diferență (ΔX) a fost la grupa de vârstă de 14 ani, înregistrându-se + 26,03 la eşantionul de fete.

3.2. Pentru colesterolul total (T-COL) valorile determinate au fost sistematizate similar pe eşantioane și grupe de vârstă. Astfel la eşantionul de băieți T-COL a evidențiat valori limită de 83,0 – 226,0 mg/dL. Cele mai crescute valori au fost la grupa de vârstă de 10 ani, cu mărimea de 150,5 mg/dL, posibila explicație rezidă în specificul nutriției și în faptul că vârsta nu este grevată de metabolismul steroizilor endogeni. În unele date ale WHO se face distincție între vârsta de 10 – 14 ani și 15 – 18 ani. Divizarea eşantioanelor de adolescenți cu vârsta de 10 – 18 ani, în subgrupele amintite, se bazează pe criterii endocrinologice (care fac trimitere la biochimia steroizilor gonadali . hormonii androgeni), în relație cu pubertatea (v. Raport WHO 731/1986). În cazul eşantionului de fete valorile T-COL decelate au fost în limitele de 75,0–313,0 mg/dL. Media mai ridicată s-a aflat, de asemenea, la grupa de vârstă de 10 ani, mărimea fiind de 159,10 mg/dL. Explicația plauzibilă face trimitere la relația vârstă – metabolism hormoni estrogeni. Procedând la comparația între eşantioanele n_1 și n_2 se remarcă diferențe mai mari la grupa de vârstă de 17 ani, valoarea ΔX fiind de + 24,16 la eşantionul de fete n_2 (raportat la eşantionul n_1).

4. În cazul lipoproteinelor serice investigațiile asupra homeostaziei biochimice la eşantionul de băieți (n_1) și fete (n_2) au urmărit statusul HDL – colesterolului (HDL-COL) și LDL – colesterolului (LDL-COL). Și în cazul acestor valori analitice concluziile se prezintă distinct, în funcție de natura compușilor.

4.1. În cazul HDL-COL s-a constatat că valorile limită determinate analitic sunt de la 64,0 – 118,0 mg/dL, iar media cea mai ridicată este 64,0 mg/dL la grupa de vârstă de 18 ani. În cazul eşantionului de fete valorile extreme se întind în domeniul de la 28,0 – 97,0 mg/dL. Diferența valorilor medii între eşantioanele n_1 și n_2 atinge cea mai crescută valoare (ΔX) la grupa de vârstă de 15 ani, fiind + 6,79 mg/dL.

4.2. Pentru LDL-COL rezultatele obținute relevă, în cazul eşantionului n_1 , limite de 19,0 mg/dL, respectiv de 193,8 mg/dL. Valoarea cea mai ridicată a mediei s-a aflat la grupa de vârstă de 10 ani, aceasta fiind 109,94 mg/dL. Urmărind datele pentru eşantionul n_2 se remarcă pentru LDL-COL limitele minimă 18,2 mg/dL, maximă 283,6 mg / dL. Mai

ridicată dintre valorile medii, s-a dovedit a fi aceea de la grupa de vârstă de 10 ani cu media 123,52 mg/dL. Diferența maximă între eșantioane s-a cifrat la + 27,59 pentru grupa de vârstă de 18 ani din eșantionul n_2 raportat la eșantionul n_1 .

5. Apariția modificărilor homeostazice ale lipidelor și lipoproteinelor serice permite stabilirea specificului dishomeostaziei biochimice și posibilitatea de încadrare a subiecților care se pot constitui în pacienți (cu înaintarea în vârstă) în tipurile de dislipidemie Fredrickson (1967) denumite: I, IIa, IIb, III, IV, V - tipuri care au fost acreditate pe plan internațional de către WHO (Memorandumul WHO din 1970).
6. Investigații conexe cercetărilor de lipidologie au fost întreprinse asupra a două biometale: calciul și magneziul. Cercetările au vizat doar o parte din eșantioanele de băieți (n_1) și de fete (n_2) și anume, grupele de vârstă de 14-18 ani. Rezultatele au evidențiat valori crescute ale calcemiei atât la băieți cât și la fete la vârsta de 17 -18 ani. În cazul magneziemiei concentrații mai mari au fost la vârsta de 17-18 ani la băieți și la vârsta de 18 ani la fete. Valori mai SC ale magneziemiei au fost observate la vârsta de 15-16 ani. Diferențele pot fi corelate cu particularitățile vârstei – legate de perioada de pubertate. În această perioadă intervin hormonii paratiroidieni (parathormonul și calcitonina) și hormonii gonadali (androgeni și estrogeni) care influențează metabolismele materiale, îndeosebi metabolismul hidro-electrolitic, metabolismul lipidic și metabolismul protidic.
7. Cercetările întreprinse relevă un aspect particular al “homeostaziei biochimice” a lipidelor și lipoproteinelor, caracterizat prin instalarea, la un număr redus de subiecți, încă din perioada de adolescență, a “heterostaziei biochimice”. În cazul heterostaziei biochimice apare un așa numit “echilibru anormal” dar un se manifestă boală. În fine, este intuită și, de fapt, remarcată în literatura de specialitate situația în care ignorarea tulburărilor homeostazice incipiente și persistența heterostaziei poate conduce la “dishomeostazia” lipidelor și lipoproteinelor serice. În timp, aceasta va însoți procesele aterogene conexe și apariția bolilor cardiovasculare.
8. Relația dishomeostazie biochimică – somatometrie prezintă interes aparte pentru faptul că poate oferi informații asupra riscului patobiochimic. În acest cadru, datele somatometrice (staturale și ponderale) permit calcularea BMI, cunoscut și sub denumirea de „index Quételet”. În funcție de acest indice, raportat la sex și vârstă, prin nomograme elaborate de Centrul pentru Controlul și Prevenirea Bolilor - CDCP din SUA (preluate de OMS), se află valori percentilice pe baza cărora se face încadrarea copiilor și tinerilor și se

evaluează statusul nutrițional și riscul patobiochimic. În funcție de „criteriul percentilic”, folosit ca bază de raportare, corespunzător valorilor:

$$< 5 / 5 - 85 / 85 - 95 / \geq 95$$

subiecții sunt considerați:

subponderali / normoponderali / risc de supraponderabilitate / supraponderali

8.1. În evaluarea relației BMI – vârstă, pe criteriul centilelor, se constată că gruparea subiecților din eșantionul de băieți (n_1) evidențiază pentru subiecții luați în studiu, raportul:

$$17 / 137 / 14 / 6$$

în funcție de criteriul percentilic:

$$< 5 / 5 - 85 / 85 - 95 / > 95$$

8.2. Similar, dacă se procedează la evaluarea relației BMI – vârstă, pe baza criteriului centilelor aplicat la subiecții din eșantionul de fete (n_2) se evidențiază raportul: :

$$12 / 209 / 16 / 12$$

în funcție de criteriul percentilic:

$$< 5 / 5 - 85 / 85 - 95 / > 95$$

9. Investigarea statusului lipidelor și lipoproteinelor serice în perioada de adolescență (vârsta de 10-18 ani) oferă, sub raport teoretic, o evaluare a stadiului incipient al unor perturbări specifice patologiei biochimice.

9.1. În conexiune cu aceste tulburări incipiente care vizează aspectele biochimice (moleculare) ale metabolismului lipidelor și lipoproteinelor se poate constata și apariția tulburărilor fiziopatologice – inițial cu modificarea homeostaziei biochimice și ulterior cu tulburări morfopatologice. Acestea din urmă se pot constata prin mijloace non-invazive – în cazul de față modificarea indexului de masă corporală.

9.2. Ca un aspect caracteristic, discutat adesea din punctul de vedere al biologiei moleculare și al medicinei preventive, se poate afirma că cercetările în această direcție evoluează de la investigații specifice cercetării științifice întreprinse asupra unor subiecți adolescenți, la investigații de interes clinic, și preocupă sub aspect biomedical și socio-economic. Acest cadru al problemei este sugerat, indirect, de tema de cercetare inițiat asupra unui așa numit « segment de populație » aflat la vârsta adolescenței.

10. Pentru evaluarea statusului lipidelor serice în cadrul „sindromului metabolic” – ca expresie a riscului dislipidemie în perioada de adolescență, pentru patologia biochimică a dislipidemiilor, se discută corelația : lipide – BMI–grupe de vârstă.
 - 10.1. Redarea diagramatică pentru eșantionul n_1 a valorilor triacilgliceridemie și a colesterolemiei relevă aspectul particular pentru BMI la 85 – 95 și > 95 percentile evidențiind potențialul patobiochimic de risc individual.
 - 10.2. Similar, la eșantionul n_2 , redarea diagramatică a datelor analitice privind triacilgliceridemia și colesterolemia, relevă datele particulare pentru BMI la 85-95 și > 95 percentile stabilind riscul predictibil al unor subiecți cu potențial de evoluție patobiochimică în perioada de adult.
11. Evaluarea statusului lipoproteinelor serice în concepția “sindromului metabolic” – care permite predicția în patobiochimie s-a făcut, de asemenea, prin corelarea dintre : lipoproteine – BMI–grupe de vârstă.
 - 11.1. Reprezentările prin diagrame – acreditate și în acest caz ca modalități de redare grafică, evidențiază la eșantionul n_1 variația HDL-COL și LDL-COL în funcție de percentilele din zonele de risc 85-95 și > 95 , expuse pe grupe de vârstă.
 - 11.2. Din reprezentările diagramatice pentru eșantionul n_2 se remarcă variația HDL-COL și LDL-COL în aceleași condiții: grupele de risc crescute 85-95 și > 95 percentile cu distribuție pe grupe de vârstă.

La ambele eșantioane se remarcă existența unui risc crescut la valorile percentilice superioare. Nu se poate însă exclude și riscul crescut direct proporțional cu vârsta, dar și existența riscului la alte grupe de vârstă. Deci, în acest sens se poate conchide că “sindromul metabolic” se evaluează individual și evoluția sau involuția acestuia poate fi ținută sub observație prin controlul statusului lipidelor și lipoproteinelor serice.

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

1. Abraham A. – Chromium picolinat supplementation in rats. *Amer.J. Clin. Nutr.*, 1980, 33, 2294-2298.
2. Abraham A.S., Brooks B.A., Eylath U. - The effects of chromium supplementation on serum glucose and lipids in patients with and without non-insulin-dependent diabetes. *Metabolism*. 1992, 41, 768-771.
3. Albu J., Pi-Sunyer X.F. – Obesity and diabetes, pp.697-707, in “*Handbook of Obesity* (Brag G., Ed.), Marcel Dekker, New York, 1998.
4. Allain C.C., Poon L. S., Chan C. S., Richmond W., Fu P. C. - Enzymatic determination of total serum cholesterol, *Clin. Chem.*, 1974, 20, 470-475.
5. Altman P. L., Dittmer S. Dorothy – *Biological handbooks-metabolism*, Federation of American Societes for Experimental Biology, Bethesda, 1968.
6. Anderson J. W. – *Dietary fiber in nutrition, management of diabets. Dietary fiber - Basic and Clinical Aspects*, Plenum Press, New York, 1986.
7. Anderson K.M., Castelli W.P., Levy D. – Cholesterol and mortality: 30 years of follow-up from The Framingham Study, *JAMA*, 1987, 257, 2176-2180.
8. Anido G. , Rosalki S.B., v Kampen E. J., Rubin M. (Eds.) – *Quality Control in Clinical Chemistry*, Publ. Walter de Gruyter, Berlin-New York, 1975.
9. Ansell G.B., Hawthorne J.N., Dawson R.M. - *Form and Function of Phospholipids*, 2nd edition, Elsevier, Amsterdam-London, 1973.
10. Aristimuno G. G., Foster T. A., Voors A. W., Srinivasan S.R., Berenson G.S. – Influence of persistent obesity in children on cardiovascular risk factors: The Bogalusa Heart study, *Circulation*, 1984, 69, 895-904.
11. Armstrong F. B. – *Biochemistry*, 3rd edition, Oxford University Press, New York-Oxford, 1989.
12. Assmann G., Schriewer H., Schmitz G., Hagele E. O. - Quantification of high density lipoprotein cholesterol by precipitation with phosphotungstic acid/MgCl₂, *Clin. Chem.*, 1983, 29, 2026-2030.
13. Aumüller Corina, Garban Gabriela, Garban Z. - Peculiarities of biochemical homeostasis regarding some divalent metals and lipid metabolites in a young population, pp. 131-138, in *Metal Elements in Environment, Medicine and Biology*, Tome VI (Eds. Gârban Z., Drăgan P.), Publishing House Eurobit, Timișoara, 2004.
14. Aumüller Corina, Garban Gabriela, Garban Z. - Nutritional status of a group of adolescents from a rural area of Banat region, *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 2006, XII(2), 557-560.
15. Aumüller Corina, Garban Gabriela – Characteristics of lipemia and lipoproteinemia in adolescence and their predictive character in biochemical pathology, in “*Proceeding of the 13th Symposium on Analytical and Environmental Problems*” (Ed. Galbács Z.), Publ. by SZAB Szeged, 2006 in press.
16. Azizi F., Rahmani M., Madjid M., Allahverdian S., Ghanbili J., Ghanbarian A., Hajipour R. - Serum lipid levels in an Iranian population of children and adolescents: Teheran lipid and glucose study, *Eur. J. Epidemiol.*, 2001, 17, 281-288.

17. Bachman R. P., Schoen E. J., Stemberge A., Jurecki E. R., Imagire R. S. – Compliance with childhood cholesterol screening among members of a prepaid health plan, *Am. J. Dis. Child.*, 1993, 147, 382-385.
18. Bachorik P.S., Ross J.W. – National Cholesterol Education Program recommendations for measurements of low-density lipoprotein cholesterol: executive summary. National Cholesterol Education Program Working Group on Lipoprotein Measurements, *Clin. Chem.*, 1995, 41, 1414-1420.
19. Baciú I. – *Fiziologie*, Ed. Didactică și Pedagogică, București, 1970.
20. Badruddin S. H., Molla A., Khurshid M., Vaz S., Hassanali S. – Cardiovascular risk factors in school children from low middle income families in Karachi, Pakistan, *J. Pak. Med. Assoc.*, 1994, 44, 106-112.
21. Bairaktari T. Eleni, Seferiadis I. K., Elisaf S.M. - Evaluation of Methods for the Measurement of Low-Density Lipoprotein Cholesterol, *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 2005, 10(1), 45-54.
22. Barlow S. E., Dietz W. H. - Obesity evaluation and treatment: Expert Committee recommendations: the Maternal and Child Health Bureau, Health Resources and Services Administration and the Department of Health and Human Services, *Pediatrics*, 1998, 102, E29.
23. Becque M. D., Katch V. L., Rocchini A. P., Marks C. R., Moorehead C. - Coronary risk incidence of obese adolescents: reduction by exercise plus diet intervention, *Pediatrics*, 1988, 81, 605 –612.
24. Belcher J. D., Ellison R. C., Shepard W. E., Bigelow C., Webber L. S., Wilmore J. H., Parcel G. S., Zucker D. M., Luepker R. V. - Lipid and lipoprotein distributions in children by ethnic group, gender, and geographic location-preliminary findings of the Child and Adolescent Trial for Cardiovascular Health (CATCH), *Prev. Med.* 1993, 22, 143-153.
25. Benlian P., Cansier C., Hennache G., Khallouf O., Bayer P., Duron F. – Comparison of a new method for the direct and simultaneous assessment of LDL/ and HDL/cholesterol with ultracentrifugation and established methods, *Clin. Chem.*, 2000, 46, 493-505.
26. Benson P. F., Fensom A. H. – *Genetic Biochemical Disorders*, Oxford University Press, Oxford-New York-Toronto, 1985.
27. Berenson G. S., Srinivasan S. R., Cresanta J. L., Foster T. A., Webber L. S. - Dynamic changes of serum lipoproteins in children during adolescence and sexual maturation, *Am. J. Epidemiol.*, 1981, 113, 157 -170.
28. Bergstrom E, Hernell O, Persson LA, Vessby B. - Serum lipid values in adolescents are related to family history, infant feeding, and physical growth. *Atherosclerosis*. 1995, 117(1), 1-13.
29. Bhatnagar D. - The metabolic basis of increased coronary risk attributed to people from the Indian sub-continent, *Curr. Sci.*, 1998, 74, 1087-1094.
30. Billimoria J.D., Fahmy M.F., Jepson E.M., Maclagen N.F. – The use of the esterified fatty acid index in the classification and quantitation of hyperlipoproteinaemias, *Atherosclerosis*, 1971, 14, 359-374
31. Bloch E. – *Lipid metabolism*, I., Wiley and Sons Inc., New York, 1960.
32. Boedhi-Darmojo R., Setianto B., Sutedjo D., Kusmana D., Andradi M., Supari F., Salan R. – A study of baseline risk factors for coronary heart disease: results of population screening in a developing country, *Rev. Epidemiol Sante Publique*, 1990, 38, 487-491.
33. Bok S. H., Lee S. H., Park Y. B., Bae K. H., Son K. H., Jeong T. S., Choi M. S. - Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methyl-

- glutaryl-CoA reductase and acyl CoA: Cholesterol transferase is lower in rats fed citrus pee extract or a mixture of citrus bioflavonoids, *J. Nutr.*, 1999, 129, 1182-1185.
34. Boulanger P., Polonovski J., Biserte G., Dautrevaux M. – *Biochimie médicale*, 2-eme ed., Masson, Paris, 1989.
 35. Boulton T. J., Magarey A. M., Cockington R. A. - Serum lipids and apolipoproteins from 1 to 15 years: changes with age and puberty, and relationships with diet, parental cholesterol and family history of ischaemic heart disease, *Acta Paediatr* 1995, 84, 1113 -1118.
 36. Bray G.A. – Use and abuse of appetite suppressant drugs in the treatment of obesity, *Ann. Intern. Med.*, 1993, 119, 707-713.
 37. Brison G. – *Lipid et nutrition humaine: Analyse des domaines recentes sur les corps gras alimentaire*, Masson, Paris, 1982.
 38. Brody T. – *Nutritional biochemistry*, Academic Press, San Diego, 1994.
 39. Brown H.B., Lewis L.A., Page I.N. – Mixed hyperlipemia, a sixth type of hyperlipoproteinemia, *Atherosclerosis*, 1973, 17(2), 181-196
 40. Brown C. D., Higgins Millicent, Donato A. Karen, Rohde F. C., Garrison R., Obarzanek Eva, Ernst Nancy D., Horan M. – Body mass index and the prevalence of hypertension and dyslipidemia, *Obes. Res.*, 2000, 8, 605-619.
 41. Bucolo G. and David H. – Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes, *Clin. Chem.*, 1973, 19, 476-482.
 42. Burnstein M., Scholnick H. R., Morfin R. – Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions, *J. Lipid Res.*, 1970, 11, 583-595.
 43. Callabero B. - Symposium: Obesity in Developing Countries: Biological and Ecological Factors, *J. Nutr.*, 2001, 131, 866-870.
 44. Caprio S., Plewe G., Diamond M. P., Simonson D. C., Boulware S. D., Sherwin R. S., Tamborlane W. V. - Increased insulin secretion in puberty: a compensatory response to reductions in insulin sensitivity, *J. Pediatr.*, 1989, 114, 963-967.
 45. Carlson K. - Lipoprotein fraction action. *J Clin Pathol.*, 1973, 5, 32-37.
 46. Carlson L.A., Rosenhamer G. - Reduction in mortality in the Stockholm Ischaemic Heart Disease Secondary Prevention Study by combined treatment with clofibrate and nicotinic acid. *Acta Med Scand.*, 1988, 223, 405-418.
 47. Champe C. Pamela, Harvey R.A. – *Illustrated Reviews: biochemistry*, J.B. Lippincott Co., Philadelphia – London - New York - Sao Paolo - Mexico City - Sydney, 1987.
 48. Chung S.J. – Formulas predicting the percentile of serum cholesterol levels by age in adults, *Arch.Pathol.Lab.Med.*, 1990, 114, 869-875.
 49. Christie W.W. – *Lipid Analysis*, 3rd edition, Oily Press, Bridgwater, 2003.
 50. Cook S., Weitzman M., Auinger P., Nguyen M., Dietz W. H. - Prevalence of a metabolic syndrome phenotype in adolescents: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994, *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.*, 2003, 157, 821-827.
 51. Cooke R.E. (Ed) – *The biologic basis of pediatric practice*, McGraw Hill Book Co., New York, 1968.
 52. Coon K. A., Goldberg J., Rogers B. L., Tucker K. L. - Relationships between use of television during meals and children's food consumption patterns, *Pediatrics*, 2001, 107, E7.
 53. Copperman N., Schebendach J., Arden M., Jacobson M.S. – Nutrient adequacy of pediatric office-based dietary therapy of hyperlipidemia, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1991, 623, 419-421.

54. Crawley H.S., Shergill-Bonner R. – Th nutrient and food intakes of 16-17 year old female dieters, *J.Human. Nutr. Diet*, 1995, 8, 25-34.
55. Crespo C.J., Smit E., Troiano R.P., Bartlett S.J., Macera C.A., Anderson R.E. - Television watching, energy intake, and obesity in U.S. children, *Arch Pediatr Adolesc Med.*, 2001, 155, 360-363.
56. Cucuianu M., Rus H.G., Niculescu D., Vonica A. – *Biochimie – Aplicații clinice*, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1991
57. Dattilo A.M., Kris-Etherton P.M. – Effects of weight reduction on blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis, *Ann. J. Clin. Nutr.*, 1992, 56, 320-328.
58. Davidson V. L., Sittman D. B. – *Biochemistry*, 3rd ed., Harwal Publishing, Philadelphia-Baltimore-Hong Kong-Munich-Sydney-Singapore, 1994.
59. Davison K. K., Birch L. L. - Weight status, parent reaction, and self-concept in five-year-old girls, *Pediatrics*, 2001, 107, 46 –53.
60. Denke M.A. – Cholesterol-lowering diets. A review of the evidence, *Arch. Intern.*, 1995, 155, 17-26.
61. Despres J.P. - Health consequences of visceral obesity, *Annals of Medicine*, 2001, 33, 534–541.
62. Deurenberg P., Westrate J. A., Seidel J. C. – Body mass index as measure of body fatness: age- and sex-specific prediction formulas, *Br. J. Nutr.*, 1991, 65, 105-114.
63. Devlin T. M. (Editor) – *Textbook of chemistry with Clinical correlations*, 3rd ed., Wiley and Sons Inc., Publication, New York-Chichester-Brisbane-Toronto-Singapore, 1992.
64. Dietz W. H. – Childhood obesity: susceptibility, cause, and management, *J. Pediatr.*, 1983, 103, 676-686.
65. Digeon B., Ferry J. P., Roullet A. – Automatic essay of blood sugar by Trinder's method, *Am. Biol. Clin.*, 1975, 33 (1), 3-13.
66. Dose K., Dose-Bieger Angelica – *Biochimie: eine Einführung*, 2 Auflage, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York-London-Paris, 1991.
67. Eckel H.R., Daniels R.S., Jacobs K. Alice, Robertson Rose Marie - America's children: A critical time for prevention, *Circulation*, 2005, 111, 1866-1868.
68. Ellefson R. D., Elveback L. R., Hodgson P. A., Weidman W. H. – Cholesterol and triglycerides in serum lipoproteins of young persons in Rochester, Minnesota, *Mayo. Clin. Proc.*, 1978, 53 (5), 307-320.
69. Ensminger A.H., Ensminger M.E., Konlande J.E., Robson J.R.K. – *The Concise Encyclopedia of Foods and Nutrition*, 2nd edition, C.R.C. Press, Boca Raton, 1995.
70. Epstein L. H., Valoski A., Wing R. R., McCurley J. – Ten-year outcomes of behavioral family-based treatment for childhood obesity, *Health Psychol.*, 1994, 13, 373-383.
71. Epstein L. H., Wing R. R., Valoski A. – Childhood obesity, *Pediatr. Clin. North Am.*, 1985, 32, 363-379
72. Epstein L.H., Valoski A., Wing R.R., McCurley J. - Ten-year follow-up of behavioral family-based treatment for obese children, *JAMA*, 1990, 264, 2519–2523.
73. Eremia D. – *Structurile vii sub presiunea timpului*, Ed. All, București, 1996.
74. Eriksson J. G., Forsen T., Tuomilehto J., Osmond C., Barker D. J. - Early growth and coronary heart disease in later life: longitudinal study, *BMJ*, 2001, 322, 949-953.
75. Falkner B., Michel S. – Obesity and other risk factors in children, *Ethnicity Dis.*, 1999, 9, 284-289.
76. Falkner Bonita, Hassink Sandra, Ross Judith, Gidding Samuel – Dysmetabolic Syndrome: Multiple Risk Factors for Premature Adult Disease in an Adolescent Girl, *Pediatrics*, 2002, 110, E14.

77. Faraj M., Lu H.L., Cianflone K. - Diabetes, lipids, and adipocyte secretagogues. *Biochemistry and Cell Biology*, 2004, 82, 170–190.
78. Feuer G., de la Iglesia F. A. – *Molecular biochemistry of human disease*, Vol. I, C. R. C., Press Inc., Boca Raton, 1985.
79. Fisher J. O., Birch L.L. - Fat preferences and fat consumption of 3- to 5-year-old children are related to parental adiposity, *J. Am. Diet. Assoc.*, 1995, 95, 759–764.
80. Fossati P., Prencipe L. - Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide, *Clin. Chem.*, 1982, 28, 2077-2080.
81. Foster W. R., Burton B. T. (Eds.) – National Institutes of Health consensus conference: health implication of obesity, *Ann Intern Med.*, 1985, 103, 977-1077.
82. Franke R., Thiele K., Hoffman F. – *Physikalisch-chemische Methoden im klinischen Laboratorium*, Bd. 1, VEB Volk und Gesundheit, Berlin, 1977.
83. Fredrickson D.S., Levy R.I., Lees R.S. - Fat transport in lipoproteins-an integrated approach to mechanisms and disorders, *N. Engl. J. Med.*, 1967, 276, 32–44; 94–103; 148–156; 215–225; 273–281.
84. Freedman D. S., Dietz W. H., Srinivasan S. R., Berenson G. S. - The relationship of overweight to cardiovascular risk factors among children and adolescents: The Bogalusa heart study, *Pediatrics*, 1999, 103, 1175–1182.
85. Freeman H. P - Poverty, culture, and social injustice: determinants of cancer disparities, CA, *Cancer J. Clin.*, 2004, 54 (2), 72-77.
86. Frerichs R. R., Srinivasan S. R., Webber L. S., Berenson G. S. – Serum cholesterol and triglyceride levels in 3446 children from a biracial community, *Circulation*, 1976, 54, 302-309.
87. Friedwald W. T., Levy R. I., Fredrickson D. S. - Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge, *Clin. Chem.*, 1972, 18, 499-502.
88. Frost P. H., Havel R. J. – Rationale for use non-high-density lipoprotein cholesterol screening and assessment of risk and therapy, *Am. J. Cardiol.*, 1998, 81, 26B-31B.
89. Fuster V., Alexander P. W., O'Rourke R. A., Roberts R., King S. B., Wellens H. J. - *Atherogenesis and its determinants. In Hurst's the heart. Volume 3.* 10th edition, New York, Mc Graw-Hill, 2001, 1065.
90. Gallo L., Bennett C., Myers S., Vanouny G. - Cholesterol absorption in rat intestine: Role of cholesterol esterase and ACAT, *J. Lipid Res.*, 1984, 25, 604-612.
91. Ganong W.F. – *Review of Medical Physiology*, 17th ed., Lange medical Book, Norwalk, CT, 1995.
92. Garban Gabriela, Vlad Rodica, Balint M., Aumüller Corina, Martău Ariana-Bianca - Serum calcium and magnesium level in a healthy teenager population from the rural area of Banat region, pp. 165-168, in *Metal Elements in Environment, Medicine and Biology*, Tome V (Eds. Gârban Z., Drăgan P.), Publishing House Eurobit, Timișoara, 2002.
93. Garban Gabriela, Aumüller Corina, Garban Z., Popescu Sofia-Georgeta – Some biochemical parameters in a group of high school children from rural area of Banat region in Romania, pp. 1151-1158, in *Macro and Trace Elements, Mengen- und Spurenelemente, 22. Workshop 2004*, Friedrich-Schiller-Universität Jena (Hrsg. Anke M. et al.), Verlag Harald Schubert, Leipzig, 2004.
94. Garban Gabriela, Aumüller Corina, Balint M., Garban Z. - Cholesterolemia and trygliceridemia in a young rural population from the Banat region of Rromania, pp.385-389, in *“Proceeding of the 12th Symposium on Analytical and Environmental Problems”* (Ed. Galbács Z.), Publ. by SZAB Szeged, 2005.

95. Garban Gabriela, Aumüller Corina, Garban Z. – Nutritional status of a group of high school children from a rural area of Timis county, *Physiology*, Abstract supplement, 2006 (16), 39-40.
96. Garban Z. - *Biochimie: Tratat comprehensiv, Vol.I*, ediția 2-a, Ed. Didactică și Pedagogică, R.A., București, 1999.
97. Garban Z., Garban Gabriela – *Nutriția umană, Vol.I, Probleme fundamentale*, ediția 3-a, Ed. Orizonturi Universitare, Timișoara, 2003.
98. Garban Z. - *Biochimie: Tratat comprehensiv, Vol.III*, ediția 2-a, Ed. Didactică și Pedagogică, R.A., București, 2004.
99. Garban Z. – *Biologie moleculară*, ediția 5-a, Ed. Eurobit, Timișoara, 2005a.
100. Garban Z. – *Xenobiochimie: Tratat comprehensiv, Vol.IV*, Ed. Eurobit, 2005b.
101. Gardner C. D., Winkleby M. A., Fortman S. P. – Population frequency distribution of non-high-density lipoprotein cholesterol (Third National Health and Nutrition Examination Survey), *Am. J. Cardiol.*, 2000, 86, 299-304.
102. Gidding S. S., Bao W., Srinivasan S. R., Berenson G. W. - Effects of secular trends in obesity on coronary risk factors in children: The Bogalusa Heart Study, *J. Pediatr.*, 1995, 127, 868–874.
103. Gidding S.S., Leibel R. L., Daniels S., Rosenbaum M., Van Horn L., Marx G.R. - Understanding obesity in youth. A statement for healthcare professionals from the Committee on Atherosclerosis and Hypertension in the Young of the Committee on Cardiovascular Disease in the Young and Nutrition Committee, American Heart Association, *Circulation*, 1996, 94, 3383 –3387.
104. Goodwin T. W., Mercer E. I. – *Introduction to plant biochemistry*, Pergamon Press Ltd., Oxford-New York-Toronto-Paris-Frankfurt, 1983.
105. Gordon-Larsen P., McMurray R.G., Popkin B.M. - Adolescent physical activity and inactivity vary by ethnicity: the National Longitudinal Study of Adolescent Health. *J Pediatr.*, 1999, 135, 301-306.
106. Gornall A. G. (Editor) – *Applied Biochemistry of Clinical Disorders*, J. B. Lippincott Company Philadelphia, 1986.
107. Gottfried S. P., Rosenberg B. - Improved manual spectrophotometric procedure for determination of serum triglycerides, *Clin. Chem.*, 1973, 19, 1077-1080.
108. Graf Christine, Koch B., Falkowski Gisa, Jouck Stefanie, Christ Hildegard, Stauenmaier Kathrin, Bjarnason-Wehrens Birna, Tokarski W., Dordel Sigrid, Predel H.-G - Effects of a school-based intervention on BMI and motor abilities in childhood, *Journal of Sports Science and Medicine*, 2005, 4, 291 – 299.
109. Gray D. S., Fujioka K. – Use of relative weight and body mass index for the determination of adiposity, *J. Clin. Epidemiol.*, 1991, 44, 545-550.
110. Gregoire P. E. – *Biochimie pathologique*, Presses Academiques Europeennes Bruxelles-Libraire Maloine S. A., Paris, 1971.
111. Griffin B. A. – Lipoprotein atherogenicity: an overview of current mechanism, *Proc. Nutr. Soc.*, 1999, 58, 163-169.
112. Guillaume M., Lapidus L., Bjorntorp P., Lambert A. - Physical activity, obesity and cardiovascular risk factors in children: The Belgium Luxembourg Child Study II, *Obes. Res.*, 1997, 5, 549-556.
113. Gunstone F.D. – *Lipids in Foods: Chemistry, Biochemistry and Technology*, Pergamon Press, Amsterdam, 1983.
114. Guo S. S., Chumlea W.C. - Tracking of body mass index in children in relation to overweight in adulthood, *Am. J. Clin. Nutr.*, 1999, 70(suppl), 145S–148S.
115. Guo S. S., Huang C., Demerath E., Towne B., Chumlea W.C., Siervogel R. M. - Body mass index during childhood, adolescence and young adulthood in relation to

- adult overweight and adiposity: the Fels Longitudinal Study, *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2000, 24, 1628-1635.
116. Guo S.S., Wu W., Chumlea C.W., Roche F.A. – Predicting overweight and obesity in adulthood from BMI in childhood and adolescence, *Amer. J. Clin. Nutr.*, 2002, 76 (3), 653-658.
 117. Gupta R., Gupta H. P., Kumar N., Joshi A. K., Gupta V. P. – Lipoprotein lipids and the prevalence of hyperlipidaemia in rural India, *J. Cardiovasc. Risk*, 1994, 1, 179-184.
 118. Gupta R., Gupta V. P., Ahluwalia N. S. - Educational status, coronary heart disease, and coronary risk factor prevalence in a rural population of India, *BMJ*, 1994, 309, 1332-1336.
 119. Gustafson-Larson A. M, Terry R. D. – Weight-related behaviors and concerns of fourth-grade children, *J. Am. Diet. Assoc.*, 1992, 92, 818-822.
 120. Guthrie Helen Andrew – *Introductory Nutrition*, 3rd ed., Ed. C. V. Mosby Company, Saint Louis, 1975.
 121. Häder D. P., Häder Maria – *Moderne Labortechniken, Geräte und Methoden*, G. Thieme Verlag, Stuttgart-New York, 1993.
 122. Hagman U., Bruce A., Persson L. A., Samuelsson G., Sjölin S. – Food habit and nutrient intake in childhood in relation to health and socio-economic condition. A Swedish multicentre study 1980-1981, *Acta Paediatr. Scand.*, 1986, 328, 5-56.
 123. Halberg F. - Chronobiology. *Ann. Rev. Physiol.*, 1969, 31, 675–725.
 124. Halberg F. - Chronobiology: methodological problems. *Acta med. Rom.*, 1980, 18, 399–440.
 125. Hammer L.D., Kraemer H.C., Wilson D.M., Ritter P.L., Dornbusch S.M. – Standardized percentile curves of body-mass index for children and adolescent, *American Journal of Diseases of Children*, 1991, 145, 259-263.
 126. Harrell J. S., Gansky S. A., McMurray R. G., Bangdiwala S. I., Frauman A. C., Bradley C. B. - School-based interventions improve heart health in children with multiple cardiovascular disease risk factors, *Pediatrics*, 1998, 102, 371-380.
 127. Harrell J. S., McMurray R. G., Gansky S. A., Bangdiwla S. I., Frauman A. G., Bradley C. B. - A public health versus a risk-based intervention to improve cardiovascular health in elementary school children: the Cardiovascular Health in Children (CHIC) study, *Am. J. Public. Health.*, 1999, 89, 1529-1535.
 128. Hăulică I. – *Fiziologie umană*, Ed. Medicală, București, 1996.
 129. Havel R. J., Rappaport E. – Management of primary hyperlipidemia, *N. Engl. J. Med.*, 1995, 332, 1491-1498.
 130. Havel R., Kanel J. – Introduction: structure and metabolism of plasma lipoproteins. P.2705, in “*The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*” (Scriver C. R., Beaudet A. L., Sly W. S., et al., Eds.), 8th ed. , McGraw, Hill Book Co., New York, 2001.
 131. He Q., Ding Z.Y., Fong D.Y., Karlberg, J. - Blood pressure is associated with body mass index in both normal and obese children. *Hypertension*, 2000, 36, 165–170.
 132. Heald F. P. - Natural history and physiological basis of adolescent obesity, *Fed. Proc.*, 1966, 25, 1–3.
 133. Hedley A. A., Ogden C. L., Johnson C. L., Carroll M. D., Curtin L. R., Flegal K. M. - Prevalence of overweight and obesity among U.S. children, adolescents, and adults, 1999-2002, *JAMA*, 2004, 291, 2847-2850.
 134. Hein K. – *Issues in adolescent health: An overview*. Carnegie Council on Adolescent Development Working Papers. New York, N.Y.: Carnegie Corporation of New York, 1988.

135. Hickie J. B., Sutton J., Russo P., Ruys J., Kraegen E.W. – Serum cholesterol and serum triglyceride levels in Australian adolescent males, *Med. J. Aust.*, 1974, 1, 825-828.
136. Hickman T.B., Briefel R.R., Carroll M.D., Rifkind B.M., Cleeman J.I., Maurer K.R., Johnson C.L. - (1998) Distributions and trends of serum lipid levels among United States children and adolescents ages 4-19 years: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Preventive Medicine*, 1998, 27, 879-890.
137. Hill J. O., Trowbridge F. L. - Childhood obesity: future directions and research priorities, *Pediatrics*, 1998, 101, 570-574.
138. Himes J. H., Dietz W. H. - Guidelines for overweight in adolescent preventive services: recommendations from an expert committee, *Am. J. Clin. Nutr.*, 1994, 59, 307–316.
139. Huang K. C., Lue B. H., Yen R. F., Shen C. G., Ho S.R., Tai T.Y., Yang W.S. - Plasma adiponectin levels and metabolic factors in nondiabetic adolescents, *Obesity Research*, 2004, 12, 119–124.
140. Irwin C. E. - Somatic growth and development during adolescence. pp.39-48, in *Pediatrics*, (Rudolph A. M., Ed.), Appleton & Lange, East Norwalk, 1991.
141. Iwata F., Hara M., Okada T., Harada K., Li S. - Body fat ratios in urban Chinese children, *Pediatrics International*, 2003, 45, 190–192.
142. Jackman L.A., Millane S.S., Martin B.R. – Calcium retention in relation to calcium intake and postmenarcheal age in adolescent females, *Am. J.Clin.Nutr.*,1997, 66, 327-333.
143. Jacobson M. S., Copperman N., Haas T., Shenker I. R. - Adolescent obesity and cardiovascular risk: a rational approach to management, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1993, 699, 220 –229.
144. Javier Nieto F., Szklo M., Comstock G. W. – Childhood weight and growth rate as predictors of adult mortality, *Am J. Epidemiol.*, 1992, 136, 201-213.
145. Jessup Ann, Harrel S. Joanne - The metabolic syndrome: Look for it in children and adolescents, too! *Clinical Diabetes*, 2005, 23, 26-32.
146. Ji C. Y., Sun J. L., Chen T. J. - Dynamic analysis on the prevalence of obesity and overweight school-age children and adolescents in recent 15 years in China, *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*, 2004, 25, 103–108.
147. Jiang X., Srinivasan S. R., Webber L. S., Wattigney W. A., Berenson G. S. - Association of fasting insulin level with serum lipid and lipoprotein levels in children, adolescents, and young adults: The Bogalusa Heart Study, *Arch. Intern. Med.*, 1995, 155, 190-196.
148. Johnson A. L., Cornoni J. C., Cassel J. C., Tyroler H. A., Heyden S., Hames C. G. - Influence of race, sex and weight on blood pressure behavior in young adults, *Am. J. Cardiol.*,1975, 35, 523–530.
149. Kanfer J.N., Hakomori S.I. – *Handbook of lipid research 3. Sphingolipid Biochemistry*, Plenum Press, New York, 1983.
150. Kang H. S., Gutin B., Barbeau P., Owens S., Lemmon C. R., Allison J., Litaker M. S., Le N. A. - Physical training improves insulin resistance syndrome markers in obese adolescents, *Med. Sci. Sports. Exerc.*, 2002, 34, 1920-1927.
151. Kannel W. B., Castelli W. P., Gordon T. – Cholesterol in the prediction of atherosclerotic diseases: new perspectives based on the Framingham Study, *Ann. Intern. Med.*, 1979, 90, 85-91.
152. Kaplan G. A., Keil J. E. - Socioeconomic factors and cardiovascular disease: a review of the literature, *Circulation*, 1993, 88, 1973-1998.

153. Kaplan G. A., Pesce A. J. – *Clinical chemistry: theory, analysis and correlation*, C.V. Mosby Comp., St. Louis-Toronto-Princeton, 1984.
154. Karelis A. D., St-Pierre D.H., Conus F., Rabasa-Lhoret R., Poehlman E.T. - Metabolic and body composition factors in subgroups of obesity: what do we know?, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2004, 89, 2569–2575.
155. Karlson P. – *Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York, 1984.
156. Katzmarzyk P., Srinivasan S., Wei C., Malina R., Bouchard C., Berenson G. - Body mass index, waist circumference, and clustering of cardiovascular disease risk factors in a biracial sample of children and adolescents, *Pediatrics*, 2004, 114, E198-E205.
157. Kennedy E., Powell R. - Changing eating patterns of American children: a view from 1996, *J. Am. Coll. Nutr.*, 1997, 16, 524–529.
158. Kernbaum S. (Coordonateur) – *Dictionnaire de Médecine Flammarion*, 3eme édition (2e tirage), Médecine-Sciences, Flammarion, Paris, 1990.
159. Kerscher L., Schiefer S., Draeger B., Maier J., Ziegenhorn J. - Precipitation methods for the determination of LDL-cholesterol, *Clin. Biochem.*, 1985, 18, 118-125.
160. Keskin Y., Moschonis G., Dimitriou M., Sur H., Kocaoglu B., Hayran O., Manios Y. - Prevalence of iron deficiency among schoolchildren of different socio-economic status in urban Turkey, *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2005, 59, 64-71.
161. Kimm S. Y., Payne G. H., Stylianou M. P., Waclawiw M. A., Lichtenstein C. – National trends in the management of cardiovascular disease risk factors in children: second NHLBI survey of primary care physicians, *Pediatrics*, 1998, 102 (5), <http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/102/5/e50>
162. Klag M. J., Ford D. E., Mead L. A.. – Serum cholesterol in young men and subsequent cardiovascular disease, *N. Engl. J. Med.*, 1993, 328, 313-318.
163. Klesges R. C., Stein R. J., Eck L. H., Isbell T. R., Klesges L. M. - Parental influence on food selection in young children and its relationships to childhood obesity, *Am. J. Clin. Nutr.*, 1991, 53, 859–864.
164. Knight J. A., Anderson S., Rawle J. M. - Chemical basis of the sulfo-phosphovanillin reaction of estimating total serum lipids, *Clin. Chem.*, 1972, 18, 199-204.
165. Knuiman J. T., West C. E., Katan M. B., Hautvast J. G. - Total cholesterol and high density lipoprotein cholesterol levels in populations differing in fat and carbohydrate intake, *Arteriosclerosis*, 1987, 7, 612-619.
166. Koch F. C., Hanke M. E. – *Metodi practice in Biochimica* (Trad.), Casa Editrice V. Idelson di E. Gnocchi, Napoli, 1952.
167. Kolbe L. J., Kann L., Brener N.D. - Overview and summary of findings, School Health Policies and Programs Study 2000, *J. Sch. Health.*, 2001, 71, 253-259.
168. Kouda K., Nakamura H., Fan W., Takeuchi H. – Negative relationships between growth in height and levels of cholesterol in puberty: a 3-year follow-up study, *Int. J. Epidemiol.*, 2003, 32 (6), 1105-1110.
169. Krauss R.M., Winston Mary, Fletcher J. Barbara, Grundy S.M. – Obesity: Impact on cardiovascular disease, *Circulation*. 1998, 98,1472-1476.
170. Krebs-Smith S. M., Cook A., Subar A. F., Cleveland L., Friday J., Kahle L. L. - Fruit and vegetable intakes of children and adolescents in the United States, *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.*, 1996, 150, 81–86.
171. Kristal B.S., Yu B.P. – The next frontier: Study of effects of age and diet on mammalian gene expression, *Kor. J. Gerontol.*, 1992, 2, 87-94.
172. Kritchevsky D., Paoletti R., Holmes W.L.(eds.) – *Lipids, lipoproteins and drugs*, Plenum Press, New York, 1975.

173. Kuchinskiene Z, Carlson LA. - Composition, concentration, and size of low density lipoproteins and of subfractions of very low density lipoproteins from serum of normal men and women. *J Lipid Res.*, 1982, 23,762 -769.
174. Kuzawa C. W., Adair L. S., Avila J. L., Cadungog J. H., Le N. A. - Atherogenic lipid profiles in Filipino adolescents with low body mass index and low dietary fat intake, *Am. J. Human. Biol.*, 2003, 15, 688-696.
175. Laaksonen D. E., Lakka H. M., Salonen J. T., Niskanen L. K., Rauramaa R., Lakka T. A. - Low levels of leisure-time physical activity and cardiorespiratory fitness predict development of the metabolic syndrome, *Diabetes Care*, 2002, 25, 1612-1618.
176. Labarthe D. R. - Prevention of cardiovascular risk factors in the first place, *Prev. Med.*, 1999, 29, 72-8.
177. Larson B., Johansson I., Hallmans E., Ericson T. – Relationship between dental caries and risk factors for atherosclerosis in Swedish adolescents, *Community Dentistry & Oral Epidemiology*, 1995, 23, 205-210.
178. Larson B., Johansson I., Weinehall L., Hallmans G., Ericson T. – Cardiovascular disease risk factors and dental caries in adolescents. Preventive program in Northern Sweden (the Norsjo project), *Acta Paediatr.*, 1997, 86, 63-71.
179. Laskarzewski P., Morrison J. A., Mellies M. J., Kelly K., Gartside P.S, P Khoury P., CJ Glueck C.J. – Relationships of measurement of body mass to plasma lipoprotein in school children and adults, *Am. J. Epidemiol*, 1980, 111, 395-406.
180. Lauer R. M., Lee J., Clarke W. R. – Factors affecting the relationship between childhood and adulthood cholesterol levels: The Muscatine Study, *Pediatrics*, 1988, 82, 309-318.
181. Lauer R.M., Connor W.E., Leaverton P. E., Reiter M.A., Clarke W.R. – Coronary heart disease risk factors in school children: The Muscatine study, *J. Pediatr.*, 1975, 86, 697-706.
182. Liepa G.U., Masoro E.J., Bertrand H.A., Yu B.P.- Food restriction as a modulator of age-related changes in human serum lipids, *Am. J. Physiol.*, 1980, 238, E253-E257.
183. Lin C.-C., Lai M. M., Liu C.-S., Li T.-C. - Serum cholesterol levels and prevalence of hypercholesterolemia in school-aged Taiwanese children and adolescents: the Taichung Study, *Chung Hua I Hsueh Tsa Chih (Taipei)*, 1999, 62, 787-794.
184. Liu K., Cedres L. B., Stamler J., Dyer A., Stamler R., Nanas S., Berkson D. M., Paul O., Lepper M., Lindberg H. A., Marquardt J., Stevens E., Schoenberger J. A., Shekelle R. B., Collette P., Shekelle S., Garside D. - Relationship of education to major risk factors and death from coronary heart disease, cardiovascular diseases and all causes, Findings of three Chicago epidemiologic studies, *Circulation*, 1982, 66, 1308-14.
185. Liu C.-S., Lin C-C., Shih H.-C., Li T.-C. – The advisability of implementing cholesterol screening in school-aged children and adolescents with family history of cardiovascular disease and hyperlipidaemia, *Family Practice*, 1999, 16, 501-505.
186. Lopes-Virella M.F. – Cholesterol determination in high-density lipoproteins separated by three different methods, *Clin.Chem.*, 1977, 23, 882-884.
187. Louisot P. – *Cours de biochimie structurale*, Vol. I, Glucide, Sinep editions, Lyon, 1969.
188. Lu W., Resnick H.E., Jablonski K.A., Jones K.L., Jain A.K., Howard W.J., Robbins D.C. and Howard B.V. – Non-HDL Cholesterol as a predictor of Cardiovascular Diseases in Type 2 Diabetes: the Strong Hearth Study, *Diabetes Care*, 2003, 26, 16-23.

189. Ludwig D. S., Peterson K. E., Gortmaker S. L. - Relation between consumption of sugar-sweetened drinks and childhood obesity: a prospective, observational analysis, *Lancet*, 2001, 357, 505–508.
190. Luo J.– Time trends of obesity in preschool children in China from 1989 to 1997, *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2002, 26, 553-558.
191. Lynch J., Davey Smith G., Harper S., Hillemeier M. - Is income inequality a determinant of population health? Part 2. US National and regional trends in income inequality and age-and cause- specific mortality, *The Milbank Quarterly*, 2004, 82, 355-400.
192. MacKay A.P., Fingerhut L.A., Duran C.R. - *Adolescent Health Chartbook. Health, United States*, Hyattsville, Maryland, National Center for Health Statistics, 2000.
193. Mahley R. W., Palaoglu K. E., Atak Z., Dawson-Pepin J., Langlois A. M., Cheung V., Onat H., Fulks P., Mahley L. L., Vakar F. - Turkish Heart Study: lipids, lipoproteins, and apolipoproteins, *J. Lipid. Res.*, 1995, 36, 839-859.
194. Mahoney L. T., Burns T. L., Stanford W. – Coronary risk factors measured in childhood and young adult life are associated with coronary artery calcification in young adults: The Muscatine Study, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1996, 27, 277-284.
195. Mallory G. B. Jr., Fiser D. H., Jackson R. - Sleep-associated breathing disorders in obese children and adolescents, *J. Pediatr.*, 1989, 115, 892–897.
196. Manios Y., Kafatos A., Codrington C. - Gender differences in physical activity and physical fitness in young children in Crete, *J. Sports Med. Phys. Fitness*, 1999, 39, 24-30.
197. Manios Y., Yiannakouris N., Papoutsakis C., Moschonis G., Magkos F., Skenderi K., Zampelas A. - Behavioral and physiological indices related to BMI in a cohort of primary schoolchildren in Greece, *Am. J. Hum. Biol.*, 2004, 16, 639-647.
198. Maslowska M., Vu H., Phelis S., Sniderman A. D., Rhode B. M., Blank D., Cianflone K. - Plasma acylation stimulating protein, adiponectin and lipids in non-obese and obese populations, *European Journal of Clinical Investigations*, 1999, 29, 679–686.
199. Masoro E.J., Compton C., Yu B.P., Bertrands H.A. – Temporal and compositional dietary restriction modulate age-related changes in serum lipids, *J. Nutr.*, 1983, 113, 880-892.
200. Matkovic V. – Calcium metabolism and calcium requirements during skeletal modeling and consolidation of bone mass, *Am. J. Clin. Nutr.*, 1991, 54(Suppl), 245S-260S.
201. Matkovic V., Ilich J.Z. – Calcium requirements for growth: are current recommendations adequate? *Nutr. Rev.*, 1993, 51, 171-180.
202. Matthews H. R., Freedland R., Miesfeld R. L. – *Biochemistry-A Short Course*, Wiley-Liss, New York-Chichester-Weinheim-Brisbane-Singapore-Toronto, 1997.
203. McCrindle B. W., Helden E., Cullen-Dean K. G., Conner W. T. - A randomized crossover trial of combination pharmacologic therapy in children with familial hypercholesterolemia, *Pediatric Res.*, 2002, 51, 715-721.
204. McKee T., McKee J.R. – *Biochemistry-An Introduction*, Wm. C. Brown Publishers, Dubuque-Bogota-Boston-Chicago-London-Madrid-Tokyo-Toronto, 1996.
205. McMurray R. G., Harrell J. S., Bangdiwala S. I., Bradley C. B., Deng S., Levine A. - A school-based intervention can reduce body fat and blood pressure in young adolescents, *J. Adoles. Health.*, 2002, 31, 125-132.
206. McNamara D. J. - Dietary cholesterol and atherosclerosis, *Biochim. Biophys Acta.*, 2000, 1529, 310-320.
207. Mei Z., Scanlon K. S., Grummer-Strawn L. M., Freedman D. S., Yip R., Trowbridge F. L. - Increasing prevalence of overweight among US low-income

- preschool children: The Centers for Disease Control and Prevention Pediatric Nutrition Surveillance, 1983 to 1995, *Pediatrics*, 1998, 101, p.e12.
208. Meier U., Gressner A. M. - Endocrine regulation of energy metabolism review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin, *Clinical Chemistry*, 2004, 50, 1511–1525.
 209. Mensink R. P., Katan M. B. - Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials, *Arterioscler. Thromb.*, 1992, 12, 911-919.
 210. Miller L. A., Grunwald G., Johnson S. L., Krebs N. F. - Disease severity at time of referral for pediatric failure to thrive and obesity: time for a paradigm shift? *J. Pediatr.*, 2002, 141, 121–124.
 211. Mincu I., Hâncu N. – *Lipidologie clinică. Vol.I, Dislipidemiile (Hiperlipoproteine-miile)*, Ed. Medicală, București, 1976.
 212. Mincu I. – *Alimentația rațională a omului sănătos*, Ed. Medicală, București, 1978.
 213. Mincu I., Hâncu N. – *Lipidologie clinică. Vol.II, Patologie lipidică tisulară*, Ed. Medicală, București, 1983.
 214. Mincu I. – *Impactul om-alimentație*, Ed. Medicală, București, 1993.
 215. Minh H. V., Byass P., Wall S. - Mortality from cardiovascular diseases in Bavi District, Vietnam, *Scand J. Public Health* , 2003, 62, 26-31.
 216. Monge-Rojas R. - Serum lipids and lipoprotein levels in Costa Rican 13–18 year-old teenagers, *Arch. Latinoam. Nutr.*, 2001, 51, 236-243.
 217. Morrison J. A., de Groot I., Edwards B. K. – Lipids and lipoproteins in 927 school children, ages 6-17 years, *Pediatrics*, 1978, 62, 990-995.
 218. Morrison J. A., Laskerzewski P. M., Rauh J. L. - Lipids, lipoproteins, and sexual maturation during adolescence: the Princeton Maturation Study, *Metabolism*, 1979, 28, 641–649.
 219. Mo-Suwan L., Lebel L. - Risk factors for cardiovascular disease in obese and normal school children: association of insulin with other cardiovascular risk factors, *Biomed Environ Sci.*, 1996, 9, 269-275.
 220. Mrdjenovic G., Levitsky D. A. - Nutritional and energetic consequences of sweetened drink consumption in 6- to 13-year-old children, *J. Pediatr.*, 2003, 142, 604-610.
 221. Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W. - *Harper's Biochemistry*, 24th edition, Appleton and Linge, Stanford-Connecticut, 1996.
 222. Must A., Jacques P. F., Dallal G. E. – Long-term morbidity and mortality of overweight adolescents: a follow-up of the Harvard Growth Study of 1922 to 1935, *N. Engl. J. Med.*, 1992, 327, 1350-1355.
 223. Myers G.L., Cooper G.R., Henderson L.O., Hassemer D.J., Kimberly M.M. - Standardization of lipid and lipoprotein measurements, pp.717-748, in *Handbook of Lipoprotein Testing* (Rifai N., Warnick G.R., Domoniczak M.H., Eds.), AACC Press, Washington, 2000.
 224. Nader P. R., Yang M., Luepker R. V. – Parent and physician response to children's cholesterol values of 200 mg/dL or greater: the Child and Adolescent Trial for Cardiovascular Health Experiment, *Pediatrics*, 1997, 99 (5),
 225. Nauck M., Warnick G.R. and Rifai N. – Methods of Measurements of LDL-Cholesterol: A Critical Assessment of Direct Measurement by Homogenous Assays versus Calculation, *Clin. Chem.*, 2002, 48 (2), 236-254.
 226. Neamțu G. – *Biochimie alimentară*, Ed. Didactică și Pedagogică, București, 1997.
 227. Neistein L. S. – *Adolescent Health Care, A Practical Guide*, 4th ed, Philadelphia: Williams & Wilkins, 2002.

228. Nemet D., Wang P., Funahashi T., Matsuzawa Y., Tanaka S., Engelman L., Cooper D. M. - Adipocytokines, body composition, and fitness in children, *Pediatrics Research*, 2003, 53, 148–152.
229. Neumark-Sztainer D., Story M., Resnick M.D., Blum R.W. - Correlates of inadequate fruit and vegetable consumption among adolescents. *Preventive Medicine*, 1996, 25, 497-505.
230. Newman W. P. III, Wattigney W., Berenson G. S. – Autopsy studies in United States children and adolescents. Relationships of risk factors to atherosclerotic lesions, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1991, 623, 16-25.
231. Newman T. B., Garber A. M., Holtzman N. A., Hulley S. B. – Problems with the report of the expert panel on blood cholesterol levels in children and adolescents, *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.*, 1995, 149, 241-247.
232. Newman T. B., Hulley S. B. – Reducing dietary intake of fat and cholesterol in children, *JAMA* 1995, 274, 1424-1425.
233. Newman T. B., Garber A. M. – Cholesterol screening in children and adolescents, *Pediatrics*, 2000, 105 (3), 637-638.
234. Nicklas T.A., Elkasabay A., Srinivasan S.R., Berenson G. - Trends in nutrient intake of 10-year-old children over two decades (1973-1994). *Am. J. Epidemiol.*, 2001, 153,969-977.
235. Numa D. (Ed.) - *Fatty Acid Metabolism and its Regulation*, Elsevier, Amsterdam, 1984.
236. Ogden C. L., Flegal K. M., Carroll M. D., Johnson C. L. - Prevalence and trends in overweight among US children and adolescents, 1999–2000, *JAMA*, 2002, 288, 1728–1732.
237. Ordoiez-Munoz FJ, Rosety-Rodriguez M, Rosety-Rodriguez JM, Rosety-Plaza M. - Anthropometrical measurements as predictor of serum lipid profile in adolescents with Down syndrome, *Rev. Invest. Clin.*, 2005, 57(5), 691-694
238. Paone M. C., Whitehouse S., Stanford D. – The challenges of transitions: Coping with a chronic condition. *Br. Columbia Med. J.*, 1998, 40, 73-75.
239. Park Y. B., Jeon S. M., Byun S. J., Kim H. S., Choi M. S. - Absorption of intestinal free cholesterol is lowered by supplementation of *Areca catechu* L. extract in rats, *Life Sci.*, 2002, 70, 1849-1859.
240. Patsch J. R., Prasad S., Gotto A. M. Jr., Patsch W. – High density lipoproteins: relationship of the plasma levels of this lipoprotein species to its composition, to the magnitude of postprandial lipemia, and to the activities of lipoprotein lipase and hepatic lipase, *J. Clin. Invest.*, 1987, 80, 341-347.
241. Pereira M. A., Fitzer Gerald S. J., Gregg E. W., Joswiak M. L., Ryan W. J., Suminski R. R., Utter A. C., Zmunda J. M. - A collection of Physical Activity Questionnaires for health-related research, *Med. Sci. Sports Exerc.*, 1997, 29 (6), 1-205.
242. Pietrobelli A., Faith M. S., Allison D. B., Gallagher D., Chiumello G., Heymsfield S. B. - Body mass index as a measure of adiposity among children and adolescents: a validation study, *J. Pediatr.*, 1998, 132, 204–210.
243. Pi-Sunyer X. F. – Medical complication of obesity, pp. 401-405, in “*Eating Disorders and obesity*” (Brownell K, Fairburn C., Eds.), New York: Guilford Press, 1995.
244. Pora E. – *Homeostazia*, Ed. Științifică și Enciclopedică, București, 1981.
245. Pugliese M. T., Lifshitz F., Grad G., Fort P., Marks-Katz M. - Fear of obesity. A cause of short stature and delayed puberty, *N. Engl. J. Med.*, 1983, 309, 513–518.

246. Puska P., Vartiainen E., Pallonen U. – The Nordh Karelia Youth Project. A community-based intervention study on CVD risk factors among 13- to 15-year-old children: Study design and preliminary findings, *Prev. Med.*, 1981, 10, 133-148.
247. Raitakari O. T., Porkka K. V. K., Ronnema T., Knip M., Uhari M., Akerblom H. K., Viikari J. S. - The role of insulin in clustering of serum lipids and blood pressure in children and adolescents, *Diabetologia*, 1995, 38, 1042-1050.
248. Raitakari O. T., Taimela S., Porkka K. V., Telama R., Valimaki J., Akerblom H. K., Viikari J. S. - Association between physical activity and risk factors for coronary heart disease: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study, *Med. Sci. Sports*, 1997, 29, 1055-1061.
249. Rapoport S. M. – *Medizinische Biochemie*, 7 Auflage, Veb Verlag Volk und Gesundheit, Berlin, 1977.
250. Rashid M., Roberts E. A. - Nonalcoholic steatohepatitis in children, *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2000, 30, 48–53.
251. Rawn L. D. – *Biochemistry*, Neil Patterson Publishers, Burlington-North Carolina, 1991.
252. Ray J. W., Klesges R. C. - Influences on the eating behavior of children, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1993, 699, 57–69.
253. Räikkönen K., Matthews KA, Salomon K. - Hostility predicts metabolic syndrome risk factors in children and adolescents, *Health Psychology*, 2003, 22 (3), 279-286.
254. Reaven G.M. - Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 1988, 37, 1595-607.
255. Reinberg A., Smolensky M.H. - Introduction to chronobiology. pp.1-21, in *Biological rhythms and medicine: cellular, metabolic, physiopathologic and pharmacologic aspects* (Reinberg A., Smolensky M.H, eds.), New York, Springer-Verlag, 1983.
256. Reinehr T., Roth C., Menke T., Andler W. – Adiponectin before and after weight loss in obese children, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2004, 89, 3790–3794.
257. Rhoades R., Pflanzer R. – *Human Physiology*, 2nd edition, Saunders College Publishing, Fort Wort-Philadelphia-San Diego-New York, 1992.
258. Riley D. J., Santiago T. V., Edelman N. H. - Complications of obesity-hypoventilation syndrome in childhood, *Am. J. Dis. Child.*, 1976, 130, 671–674.
259. Rocchini A. P. – Adolescent obesity and hypertension, *Pediatr. Clin. North Am.*, 1993, 60, 81-92.
260. Rodier J., Mallein R. – *Manuel de Biochimie pratique a l'usage des laboratoires d'analyses mediacales*, Libraire Maloine, Paris, 1968.
261. Rona R.J., China S. – Genetic and environmental influences on growth, *J.Med.Screening*, 1995, 2(3), 133-139.
262. Rosenbaum M., Leibel R.L. - The physiology of body weight regulation: relevance to the etiology of obesity in children, *Pediatrics*, 1998, 101(suppl), 525–539.
263. Saar Kathrin, Geller F., Rüschemdorf F, Reis A., Friedel Susann, Schäuble Nadine, Nürnberg P., Siegfried W., Goldschmidt H.-P., Schäfer H., Ziegler A., Remschmidt H., Hinney A., Hebebrand J. - Genome Scan for Childhood and Adolescent Obesity in German Families, *Pediatrics*, 2003, 111 (2), 321-327.
264. Sahu Suchandra, Chawla Rajinder, Uppal Bharti – Comparison of two methods of estimation of low density lipoprotein cholesterol, the direct versus Friedwald estimation, *Indian J. Chem. Biochem.*, 2005, 20 (2), 54-61.
265. Saito T., Shimazaki Y., Koga T., Tsuzuki M., Ohsima A. – Relationship between Upper Body Obesity and Periodontitis, *J. Dent., Res.*, 2001, 80(7), 1631-1636.

266. Salbe A. D., Weyer C., Lindsay R. S., Ravussin E., Tataranni P.A. - Assessing risk factors for obesity between childhood and adolescence. I. Birth weight, childhood adiposity, parental obesity, insulin, and leptin, *Pediatrics*, 2002, 110 (2 Part 1), 299–306.
267. Sallis J.F., Conway T.L., Prochaska J.J., McKenzie T.L., Marshall S.J., Brown M. - The association of school environments with youth physical activity, *Am J Public Health*, 2001, 91, 618-620.
268. Schulpis Kleopatra, Karikas A.G. - Serum Cholesterol and Triglyceride Distribution in 7767 School-aged Greek Children, *Pediatrics*, 1998, 101(5), 861-864.
269. Seelig S. Mildred – Magnesium deficiency in the pathogenesis of disease, Plenum Medical Books, New York, 1980.
270. Shinha R., Fisch G., Teague B., et al. - Prevalence of impaired glucose tolerance among children and adolescents with marked obesity. *N. Engl. J. Med.*, 2002, 346, 802–810.
271. Silvestri J. M., Weese-Mayer D. E., Bass M. T., Kenny A. S., Hauptman S. A., Pearsall S. M. - Polysomnography in obese children with a history of sleep-associated breathing disorders, *Pediatr. Pulmonol.*, 1993, 16, 124-129.
272. Sinaiko A. R., Donahue R. P., Jacobs D. R. Jr., Prineas R. J. – Relation of weight and rate of increase in weight during childhood and adolescence to body size, blood pressure, fasting insulin, and lipids in young adults. The Minneapolis Children's Blood Pressure Study, *Circulation*, 1999, 99, 1471-1476.
273. Slyper A. H. - The pediatric obesity epidemic: causes and controversies, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2004, 89, 2540–2547.
274. Skipski V. P., Barclay Marion, Barclay R. K., Fetzer A. Valentina, Good J.J., Archibald F.M.- Lipid composition of human serum lipoproteins, *Biochem. J.*, 1967, 104, 340–352.
275. Skipski, V.P. - Lipid composition of lipoproteins in normal and diseased states. pp.471-583, in *Blood Lipids and Lipoproteins: Quantitation, Composition and Metabolism*. (Nelson G.J., ed.), Robert E. Krieger Publishing Co., New York, 1972.
276. Snyder F. (Ed.) - *Lipid Metabolism in Mammals*, Vol. 1-2, Plenum Press, New York, 1977.
277. Sorlie P. D., Garcia-Palmieri M. R. - Educational status and coronary heart disease in Puerto Rico: The Puerto Rico Heart Health program, *Int. J. Epidemiol.*, 1990, 19, 59-65.
278. Sothorn M. S., von Almen T. K., Schumacher H., et al. - An effective multidisciplinary approach to weight reduction in youth, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1993, 699, 292–294.
279. Srinivasan S. R., Berenson G. S. – Serum lipoprotein in children and methods for study, pp.185-204, in “*Handbook of Electrophoresis Vol. III: Lipoprotein Methodology and Human Studies*” (Lewis L.A, Ed.), CRC Pres, Boca Raton, FL, 1983.
280. Srinivasan S. R., Dahlen G. H., Jarpa R. A., Webber L. S., Berenson G. S. – Racial (black-white) differences in serum lipoprotein (a) distribution and its relation to parental myocardial infarction in children. Bogalusa Heart Study, *Circulation.*, 1991, 84, 160-167.
281. Srinivasan S.R., Myers L., Berenson G.S. – Distribution and correlates of non-high-density lipoprotein cholesterol in children: the Bogalusa Heart Study, *Pediatrics*, 2002, 110(3), e29.
282. Stefan N., Bunt J.C., Salbe A.D., Funahashi T., Matsuzawa Y., Tataranni P.A. - Plasma adiponectin concentrations in children:relationships with obesity and insulinemia, *J. Clin. Endocrinol.Metab.*, 2002, 87, 4652–4656.

283. Steinberg I. – *Adolescence*, 5th ed., McGraw-Hill, 1999.
284. Steiner M.H., Neinstein L.S., Pennbridge J. – Hypercholesterolemia in adolescents screening strategies based on selected risk factors, *Pediatrics*, 1991, 88, 269-278.
285. Story M., Neumark-Sztainer D., Sherwood N., Stang J., Murray D. - Dieting status and its relationship to eating and physical activity behaviors in a representative sample of US adolescents. *J Am Diet Assoc.*, 1998, 98, 1127-1135
286. Strauss R. S., Knight J. - Influence of the home environment on the development of obesity in children, *Pediatrics*, 1999, 103.
287. Strong J.P., McGill H.C. Jr. – The pediatric aspects of atherosclerosis, *J. Atheroscler. Res.*, 1969, 9, 251-265.
288. Stryer L. – *Biochemistry*, 4th edition, W.H. Freeman and Comp., New York, 1996.
289. Stunkard A.J., Harris J.R., Pedersen N.L., McClearn G.E. - The body mass index of twins who have been reared apart, *N. Engl. J. Med.*, 1990, 322, 1483–1487.
290. Suthutvoravut U., Charoenkiatkul S., Chitchumroonchokchai C., Kosulwat V., Mahachoklertwattana P., Rojroongwasinkul N. – Elevated serum cholesterol levels in Bangkok children and adolescents, *J. Med. Assoc. Thai.*, 199, 82, S117-S121.
291. Tall A. R. – Plasma high density lipoproteins: metabolism and relationship to atherogenesis, *J. Clin. Invest.*, 1990, 86, 379-384.
292. Tamir I., Heiss G., Glueck C. J., Christensen B., Kwiterovich P., Rifkind B M. – Lipid and lipoprotein distributions in white children ages 6-19 years. The lipid Research Clinics Program. Prevalence Study, *J. Chron. Dis.*, 1981, 34, 27-39.
293. Tanner J. M. - *Foetus Into Man. Physical Growth From Conception to Maturity*. Cambridge: Harvard University Press, 1978.
294. Teodorescu-Exarcu I. (Ed.) – *Patologie biochimică*, Ed. Medicală, București, 1974.
295. Tershakovec A.M., Watson M.H., Wenner W.J.Jr., Marx A.L. - Insurance reimbursement for the treatment of obesity in children, *J. Pediatr.*, 1999, 134, 573–578.
296. Tienboon P., Rutishauser IHE, Wahlqvist M. L. – Early life factor affecting body mass index and waist-hip ratio in adolescence, *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 1992, 1, 21-26.
297. Tolfley K., Campell I. G., Batterham A. M. - Exercise training induced alterations in prepubertal childrens' lipid-lipoprotein profile, *Med. Sci. Sports. Exerc.*, 1998, 30, 1684-1692.
298. Tolfley K., Jones A.M., Campell I.G. - The effect of aerobic exercise training on the lipid- lipoprotein profile of children and adolescent, *Sports Med.*, 2000, 29, 99-112.
299. Tortolero S. R., Goff Jr. D. C., Nichaman M. Z., Labarthe D. R., Grunbaum J. A., Hanis C. L. – Cardiovascular risk factors in mexican-american and non-hispanic white children: The Corpus Christi Child Hearth Study, *Circulation*, 1997, 96 (2), 418-423.
300. Trinder P. – Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen receptor, *Ann. Clin. Biochem.*, 1969, 6, 24-28.
301. Tyroler H. A. - The influence of socioeconomic factors on cardiovascular disease risk factor development, *Prev. Med.*, 1999, 29(6), 36-40.
302. Vance D.E., Vance J. (Eds.) - *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, Elsevier, Amsterdam, 1991.
303. Vance D.E., Vance J. (Eds) – *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 4th edition, Elsevier, Amsterdam, 2002.
304. Viikari J., Akerblom H. K., Uhary M. – Atherosclerosis precursor in Finnish children and adolescents, pp.21-42, in “*Cardiovascular risk factors in childhood: epidemiology and prevention*” (Hetzel B., Berenson G.S., Eds.), Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1987.

305. Voet D., Voet Judith G. – *Biochemistry*, John Wiley and Sons Inc., New York, 1990.
306. Voors A.W., Foster T.A., Frerichs R.R., Webber L.S., Berenson G.S. – Studies of blood pressures in children, ages 5-14 years, in a total biracial community: the Bogalusa Heart Study, *Circulation*, 1976, 54 (2), 319-327.
307. Wadden T. A., Foster G. D., Letizia K. A. - One-year behavioral treatment of obesity: comparison of moderate and severe caloric restriction and the effects of weight maintenance therapy, *J. Consult. Clin. Psychol.*, 1994, 62, 165–171.
308. Walsh T., Devlin M. – Eating Disorders: Progress and Problems, *Science*, 1998, 280, 1387-1390.
309. Wang Y., Ge K., Popkin B. M. - Tracking of body mass index from childhood to adolescence: a 6-year follow-up study in China, *American J. Clin. Nutr.*, 2000, 72, 1018–1024.
310. Wang Y., Wang J. Q. - A comparison of international references for the assessment of child and adolescent overweight and obesity in different populations, *European Journal of Clinical Nutrition*, 2002, 56, 973–982.
311. Warnick G., Nauck M., Rifai N. – Evolution of methods for measurements of high-density lipoprotein cholesterol: from ultracentrifugation to homogenous assays, *Clin. Chem.*, 2001, 47, 1579-1596.
312. Watkin D.M. – *Handbook of nutrition, health and aging*, Noyes Publications, Park Ridge, New Jersey, 1983.
313. Webber L.S., Srinivasan S.R., Wattigney W.A., Berenson G.S. - Tracking of serum lipids and lipoproteins from childhood to adulthood the Bogalusa Heart Study. *Am J Epidemiol*, 1991, 133, 884-899.
314. Weil J. H. – *Biochimie générale*, Ed. Masson, Paris, 1989.
315. Weiss R., Dziura J., Burgert T.S., Tamborlane W.V., Taksali S.E., Yeckel C.W., Allen K., Lopes M., Savoye M., Morrison J., Sherwin R. S., Caprio S. - Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents, *N. Engl. J. Med.*, 2004, 350, 2362-2374.
316. Whitaker R.C., Wright J.A., Pepe M.S., Seidel K.D., Dietz W.H. - Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity, *N. Engl. J. Med.*, 1997, 337, 869–873.
317. Whiting M.J., Shepard M.D.S. and Tallis G.A. – Measurement of plasma LDL-Cholesterol in patients with diabetes, *Diabetes Care*, 1997, 20, 12-14.
318. Wiegman A., Hutten B. A., de Groot E., Rodenburg J., Bakker H. D., Buller H. R., Sijbrands E. J., Kastelein J. J. - Efficacy and safety of statin therapy in children with familial hypercholesterolemia: a randomized controlled trial, *JAMA*, 2004, 292, 331-337.
319. Willi S.M., Oexamnn M.J., Wright N.M., Collup N.A., Key L.L.Jr. - The effects of a high protein, low-fat, ketogenic diet on adolescents with morbid obesity: body composition, blood chemistries, and sleep abnormalities, *Pediatrics*, 1998, 101, 61–67.
320. William C. L., Arnold C. B., Wynder E. L. – Primary prevention of chronic disease beginning in childhood. The know your body program: design of study, *Prev. Med.*, 1977, 6, 344-357.
321. Williams B. - *Biostatistics*, Chapman & Hall, London, 1993.
322. Williams C. L., Hayman L. L., Daniels S. R., Robinson T. N., Steinberger J., Paridon S., Bazzarre T. - Cardiovascular health in childhood: a statement for health professionals from the Committee on Atherosclerosis, Hypertension, and Obesity in the Young (AHOY) of the Council on Cardiovascular Disease in the Young, American Heart Association, *Circulation*, 2002, 106, 143-160.

323. Wilmore J. M., McNamara J. J. – Prevalance of coronary heart disease risk factors in boys, 8-12 years of age, *J. Pediatr.* 1974, 84, 527-533.
324. Winkleby M. A., Cubbin C., Ahn D. K., Kraemer H. C. - Pathways by which SES and ethnicity influence cardiovascular disease risk factors, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1999, 896, 191-209.
325. Wisemandle W., Maynard L. M., Guo S. S., Siervogel R. M. - Childhood weight, stature, and body mass index among never overweight, early-onset overweight and late-onset overweight groups, *Pediatrics*, 2000, 106.
326. Yu H.H., Markowitz R., De Ferranti S.D., Neufeld E.J., Farrow G., Bernstein H.H. and Rifai N. – Direct measurement of LDL cholesterol in children: Performance of two surfactant-based methods in general pediatric population, *Clin. Biochem.*, 2000, 33 (2), 89-95.
327. Zhijie Yu., Aulikki Nissinen, Erkki Vartiainen, Gang Hu, Huiguang Tian, Zeyu Guo - Socio-economic status and serum lipids: A cross sectional study in a Chinese urban population, *J. Clin. Epidemiol.*, 2002, 55, 143-149.
328. Zlatkis A., Zak B., Boyle A. J. - A new method for the direct determination of serum cholesterol, *J. Lab. Clin. Med.*, 1953, 41, 486-492.
329. *** *The Nomenclature of Lipids* - ed. by I.U.P.A.C.-I.U.B. Commission of Biochemical Nomenclature, *Biochem. J.*, 1967, 105, 897-902.
330. *** WHO, Classification of hyperlipidaemias and hyperlipoproteinemias, *Bull. Wld. Hlth. Org.* 431, 891, 1970
331. *** DISC Collaborative Research Group Efficacy and safety of lowering dietary intake of fat and cholesterol in children with elevated low-density lipoprotein cholesterol. The Dietary Intervention Study in Children (DISC). *JAMA*, 1984, 251, 365-374.
332. *** W.H.O. *Young people's health – a challenge for society*. Report of a Study Group on Young People and Health for All by the Year 2000, Technical report Series, No. 731. Geneva: World Health Organization, 1986.
333. *** Pathological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. Relationships of atherosclerosis to serum lipoprotein cholesterol concentration and smoking, *JAMA*, 1990, 264, 3018-3024.
334. *** The Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. Mortality rates after 10,5 years for participant in the Multiple Risk Factor Intervention Trial: finding related to a priori hypotheses of the trial. *JAMA*, 1990, 263, 1795-1801.
335. *** American Academy of Pediatrics. National Cholesterol Education Program: report of the expert panel on blood cholesterol levels in children and adolescents, *Pediatrics*, 1992, 89, 525-584.
336. *** National Cholesterol Education Program (NCEP): highlights of the report of the Expert Panel on Blood Cholesterol Levels in Children and Adolescents, *Pediatrics*, 1992, 89(3), 495-501.
337. *** National Cholesterol Education Program Report of the expert panel on blood cholesterol levels in children and adolescents, *Pediatrics*, 1992, 89, 515-584.
338. *** NIH Consensus Development Panel of Triglyceride, High-density Lipoprotein and Heart Disease, *JAMA*, 1993, 269, 505-510.
339. *** PDAY Research Group. Natural history of aortic and coronary atherosclerotic lesions in youth: findings from the PDAY study, *Arterioscler. Thromb.*, 1993, 131, 291-298.
340. *** IUPAC, IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN) – Nomenclature of glycolipids. Recommendations 1997, *Eur. J. Biochem.*, 1998, 257, 293-298.

341. *** Council on Scientific Affairs, Obesity as a Major Public Health Problem, American Medical Association, Chicago, IL, 1999.
342. *** WHO: *Cardiovascular diseases. Prevention and control*, Geneva: World Health Organization, 2001.
343. *** AAP Committee on Nutrition - Prevention of pediatric overweight and obesity, *Pediatrics*, 2003, 112, 424-430.
344. *** American Academy of Pediatrics, Soft drinks in schools, *Pediatrics*, 2004, 113, 152-154.
345. *** Centers for Disease Control and Prevention, BMI for children and teens, 2003. <http://www.cdc.gov/nccdphp/dnpa/bmi/bmi-for-age.htm>. Accessed 27 August 2004
346. *** National Cholesterol Education Program Expert Panel on Blood Cholesterol Levels in Children and Adolescents: Cholesterol and atherosclerosis in children. Publ. by OMS, Geneva, 2004.
347. *** Centers for Disease Control and Prevention, CDC table for calculated body mass index values for selected heights and weights for ages 2 to 20 years. www.cdc.gov/nccdphp/dnpa/bmi/00binaries/bmi-tables.pdf. - Accessed 27 August 2004
348. *** <http://www.ama-assn.org/meetings/public/annual99/reports/csa/rtf/csa6.rtf> - 2003
349. *** <http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/101/1/e12> - 2004
350. *** <http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/103/6/e85> - 2005
351. *** <http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/106/1/e14> - 2005
352. *** <http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/99/5/e5> - 2005
353. *** <http://www.cdc.gov/growthcharts> - 2006
354. *** http://www.fatfreekitchen.com/cholesterol/cholesterol_units.html - 2006