

ność różnicy na poziomie 0,1% dotyczącej frakcji I.

Dla frakcji białkowych hemolimfy pszczoł pochodzących z pnia zakażonego chorobą zarodnikowcową (*Nosematosis apis*) w maju nie stwierdzono różnic istotnych, natomiast w przypadku schorzenia, które wystąpiło w sierpniu stwierdzono różnicę istotną na poziomie 5% dotyczącą frakcji I i II oraz różnicę istotną na tym samym poziomie dla białka całkowitego.

Na podstawie przeprowadzonych badań można wyciągnąć następujące wnioski:

1. Metodą elektroforezy na bibule, białka hemolimfy pszczoł — robotnic, rozdzielają się na 2—5 frakcji, które leżą w zakresie ruchliwości elektroforetycznej globulin człowieka. Białka hemolimfy matek mają podobną ruchliwość elektroforetyczną i rozdzielają się na 4 frakcje. W hemolimfie trutni stwierdza się 3 frakcje białkowe odpowiadające ruchliwości II, III, IV względnie V frakcji białek hemolimfy pszczoł-robotnic.

2. Obraz białkowy hemolimfy pszczoł-robotnic jest najbardziej stały w okresie jesienno-zimowym. Okres wiosny i wczesnego lata charakteryzuje się ogromnymi wahaniami.

3. Frakcje białkowe hemolimfy pszczoł-robotnic i matek dobrze barwią się czernią amidową 10 B, słabiej natomiast barwią się przy użyciu tej metody frakcje białkowe hemolimfy trutni.

4. Większa barwliwość frakcji białkowych przy użyciu czerni amidowej 10 B w porównaniu z błękitem bromofenolowym i azokarminem B wskazywałaby na lipofilny charakter frakcji hemolimfy pszczoły.

5. Średnie miesięczne poziomy białka całkowitego w hemolimfie pszczoł-robotnic wahają się od 5,5—9,0 g/% i zależą od pory roku.

6. Stwierdzone statystycznie różnice istotne w poziomie frakcji białkowych przy zgnilcu złożliwym i łagodnym oraz przy chorobie zarodnikowcowej należałoby przypisać ogólnym zaburzeniom w cyklu życiowym rodziny pszczoły występującym na skutek choroby.

7. Poziom białka całkowitego w hemolimfie pszczoł chorych na chorobę zarodnikowcową występującą w sierpniu jest wyższy od poziomu stwierdzanego u pszczoł zdrowych w tym samym okresie.

8. Przy ocenie wyników rozdziału elektroforetycznego białek hemolimfy należy brać pod uwagę porę roku oraz zjawisko chwiejności białek hemolimfy pszczoł występujące u nich w warunkach fizjologicznych.

9. Chwiejność białek hemolimfy pszczoł znajduje wyraz w wysokich wartościach odchylenia standardowego i współczynnika zmienności oraz wpływa niekorzystnie na powtarzalność i odtwarzalność wyników.

Wykaz piśmiennictwa obejmującego 30 pozycji znajduje się u autorki.

Adres autorki: dr Barbara Tomaszewska, Wrocław, ul. Gersona 8/10.

## FIZJOLOGIA I FIZJOPATOLOGIA

LEON FELIŃSKI

Szczecin

### Niektóre zagadnienia przemiany wyższych kwasów tłuszczowych w żwaczu

Prowadzone są badania nad rolą fizjologiczną, naturą i zmianami fizyko-chemicznymi tłuszczu pokarmowego w przedżołądkach przeżuwaczy. Dowodem szerszego zainteresowania tą problematyką w kraju, było opublikowanie kilku prac przeglądowych. W pracach tych Pytasz (25, 26) nawiązuje do zasadniczych procesów biochemicznych zachodzących w żwaczu. Uwagę autora przykuwają przemiana cukrowców oraz lotne kwasy tłuszczowe i ich los w żwaczu.

Niniejsza praca bezpośrednio nawiązuje do omawianej w tych pracach problematyki i jest podsumowaniem nowszych zdobyczy w dziedzinie metabolizmu nienasyconych kwasów tłuszczowych w żwaczu.

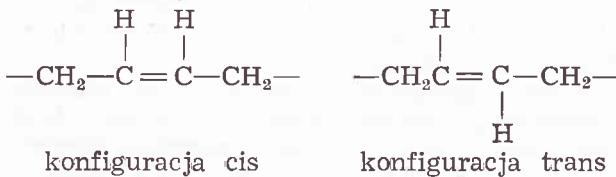
#### I. Struktura tłuszczu pokarmowego

W żywieniu alkierzowym jak też pastwiskowym krowa spożywa dziennie około 500 g tłuszczu. Są to głównie pochodne glicerydów (galaktoglicerydy) zawierające jedną lub dwie cząsteczki galaktozy. Struktura chemiczna tych związków przedstawia się następująco:

CH<sub>2</sub>O ——— galaktoza  
 CHO ——— kwas tłuszczowy  
 CH<sub>2</sub>O ——— kwas tłuszczowy  
 CH<sub>2</sub>O ——— galaktoza -galaktoza  
 CHO ——— kwas tłuszczowy  
 CH<sub>2</sub>O ——— kwas tłuszczowy

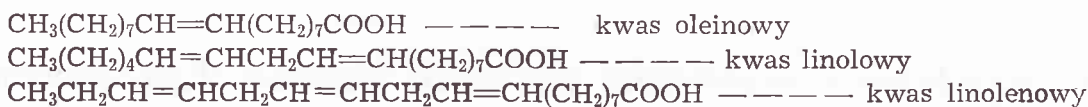
Kwasy tłuszczowe stanowią ponad 50% ciężaru spożytego tłuszczu, a nienasycone

kwasy tłuszczowe ponad 70% wszystkich kwasów. Z kolei, spośród nienasyconych kwasów, kwas linolenowy stanowi około 60% (11, 27, 28). Z badań Felińskiego wynika, że w okresie alkierzowego żywienia owiec karmionych siemem i mieszanką „B”, nienasycone kwasy tłuszczowe stanowiły 77% wszystkich kwasów, w tym kwas linolenowy 36,8% (7). Podwójne wiązania występujące w kwasach tłuszczowych pochodzenia roślinnego są w konfiguracji *cis*, w przeciwieństwie do konfiguracji *trans* występującej często w kwasach tłuszczowych w żywcu (15). Te na pozór małe zmiany w budowie cząsteczki kwasu tłuszczowego odgrywają istotną rolę w dalszej przemianie tych związków.



## II. Losy tłuszczu pokarmowego w żywcu

Wiemy, że treść pokarmowa może przebywać w przedłożkach od kilku do kilkunastu dni. W tym mikrosrodowisku pod wpływem ogromnej ilości bakterii i wymoczków zachodzą zasadnicze procesy rozkładu i syntezy. Tłuszcze pochodzenia roślinnego jak glicerydy, fosfolipidy, sulfolipidy i estry steroli ulegają hydrolitycznemu rozkładowi (12, 16). Uwolniony glicerol ulega szybko procesowi fermentacji, a los kwasów tłuszczowych zależy przede wszystkim od ich struktury chemicznej. Są to głównie kwasy nienasycone, pochodne kwasu stearynowego o 18 atomach węgla, a mianowicie:



Podwójne wiązania w kwasach tłuszczowych umożliwiają w odpowiednich warunkach procesy utleniania lub redukcji tych związków. W płynnej treści żywca panują warunki względnie beztlenowe, dlatego praktycznie rzecz biorąc utlenianie kwasów tłuszczowych w żywcu nie występuje. Występuje natomiast uwodornianie nienasyconych kwasów tłuszczowych, co udowodnili doświadczalnie Shorland i wsp. (28). Wykazali oni, że kwas linolenowy szczególnie szybko ulega w żywcu procesowi uwodorniania. Późniejsze badania innych autorów (9, 19) potwierdziły ten wniosek. Problem ten szeroko jest omawiany w publikacjach naukowych. Zainteresowanym polecam przeglądy piśmiennictwa z ostatnich lat (8, 13, 14, 15).

Shorland i wsp. (27) byli prawdopodobnie pierwszymi, którzy donieśli o powstawaniu w żywcu kwasów w konfiguracji *trans*. Z

kwasy oleinowego, linolowego i linolenowego, które nie zostały uwodorniane do kwasu stearynowego, 17,48 i 67% każdego z tych kwasów stwierdzono w formie *trans*. O powstawaniu *trans*-izomerów nienasyconych kwasów tłuszczowych w żywcu donoszą też inni badacze (29). Jedne z nowszych badań wykazują, że 63% kwasów o 18 atomach węgla w cząsteczce wyosobnionych z bakterii żywca, było w formie *trans* (21). Analizując treść żywca bez bakterii stwierdzono 75% kwasu oleinowego, 26% linolowego i 7% linolenowego w formie *trans*. Nie można więc wykluczyć udziału wymoczków i innych mikroorganizmów w procesie uwodorniania nienasyconych kwasów tłuszczowych (30, 31). Powstawanie *trans*-nienasyconych kwasów w żywcu ma przypuszczalnie bezpośredni związek z obecnością tych kwasów w depot tłuszczowym przeżuwaczy, a nie występowaniem ich u innych roślinożernych zwierząt (18).

Z przytoczonych danych różnych autorów wynika, że nie wszystkie nienasycone kwasy tłuszczowe ulegają w żywcu nasyceniu lub przekształceniu z formy *cis* w formę *trans*. Szczególnie „oporny” na uwodornianie jest kwas linolowy o dwóch podwójnych wiązaniach połączonych ze sobą. Schematycznie wiązania takie wyglądają następująco:  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$ . Z tego wynika, że cząsteczka  $\text{CH}_2$  może migrować w określonych warunkach środowiska (za 15). Jednak w innych pracach wykonanych z treścią żywca *in vitro* (za 15) wykazano, że kwasy oleinowy, linolowy i linolenowy ulegają prawie pełnemu przekształceniu na kwas stearynowy, a *trans*-mono-nienasycone kwasy, pochodne kwasu linolowego, są tylko formą przejściową.

## III. Charakterystyka kwasów tłuszczowych mikroorganizmów

Powstaje pytanie, jaki jest wkład kwasów tłuszczowych pochodzenia bakteryjnego, które mogą być wykorzystywane w procesie trawienia u przeżuwaczy. Czy bakterie są dodatkowym źródłem nienasyconych kwasów tłuszczowych?

Cunnigham i Loosli (3) nie stwierdzili obecności kwasu linolowego i linolenowego wśród kwasów z bakterii żywca. Do podobnych wniosków doszli również Garton i Axford (17). Inni natomiast twierdzą, że wśród kwasów pochodzenia bakteryjnego są mono- i wielonienasycone kwasy, pochodne kwasu stearynowego (5, 22). Katz i Keeney (24) podają, że 5,9% wszystkich kwasów z bakterii

zwacza krowy karmionej sianem, stanowił kwas oleinowy i 2,8% kwas linolowy. Kwas linolowy o podwójnych wiązaniach między 9 i 10 oraz 12 i 13 węglami jest dla zwierząt związkiem egzogennym i dlatego jego obecność zasługuje na szczególną uwagę. Stwierdzono, że około 85% kwasu linolowego ma podwójne wiązanie w pozycjach 9 i 12.

Analizując kwasy wyodrębnione z tłuszczu bakterii wykazano, że kwas o 18 atomach węgla w cząsteczce z jednym podwójnym wiązaniem nie był kwasem oleinowym lecz jego izomerem, kwasem wakceninowym. Inaczej mówiąc podwójne wiązanie występowało nie w pozycji 9, lecz 11. Czerkawski i Blaxter (4) uważają z kolei, że kwas elaidynowy, a nie oleinowy jest pośrednim produktem uwodnorodowania kwasów linolowego i linolenowego w żwaczu. Kwas elaidynowy jest trans izomerem kwasu oleinowego. Ta nieznaczna zmiana w strukturze chemicznej powoduje różne właściwości obu kwasów.

Katz i Keeney wykazali ponadto, że wśród kwasów z mikroorganizmów żwacza krowy, są kwasy o rozgałęzionym łańcuchu węglowym, posiadające po 13, 14, 15, 16 i 17 węgli w cząsteczce. Najmniej, bo tylko około 20% było kwasu o 15 węglach. Bakterie *Ruminococcus flavefaciens* wśród stwierdzonych kwasów zawierały 44% kwasu  $-C_{15}$ . Jak się okazało (za 15) szczep *Ruminococcus albus* wymaga obecności rozgałęzionych kwasów tłuszczowych jako czynnika wzrostowego. Kwas izowalerianowy jest dla tego szczepu bakterii prekursorem leucyny i kwasów nasyconych rzędu  $C_{15}$  i  $C_{17}$ .

Ta różnorodność kwasów tłuszczowych będących integralną częścią komórki bakterii może świadczyć o daleko idącym zróżnicowaniu tych mikroorganizmów. Nie znamy bliżej ich dróg przemiany materii.

#### IV. Biosynteza nienasyconych kwasów tłuszczowych

Należy wyjaśnić czy nienasycone kwasy, pochodne kwasu stearynowego, są syntetyzowane przez bakterie żwacza, czy też mogły być adsorbowane z treści pokarmowej. Viviani i Lenaz (32) żywiąc owce przez 10 dni pokarmem pozbawionym białka i tłuszczu stwierdzili 1400 mg kwasów tłuszczowych w 1 litrze płynnej treści żwacza. Autorzy ci określają, że w objętości 5,5 litra treści żwacza przez 24 godziny mikroorganizmy syntetyzowały: 1629 mg kwasu  $C_{15}$ , 1589 mg kwasu palmitynowego, 709 mg kwasu oleinowego i 423 mg kwasu linolowego. Inni badacze (22) również donoszą, że wśród kwasów tłuszczowych ekstrahowanych z tłuszczu bakterii są kwasy o 18 atomach węgla z dwoma lub trzema podwójnymi wiązaniami. Nie mamy jednak pewności, czy to były kwasy linolowy i linole-

nowy. Erwin i wsp. (5) sugerują, że kwas linolowy może być syntetyzowany przez bakterie żwacza.

Zdolność biosyntezy wielonienasyconych kwasów tłuszczowych jest cechą charakterystyczną wszystkich żyjących organizmów za wyjątkiem tych bakterii, u których nie zachodzi desaturacja tlenowa i dlatego syntetyzują one tylko kwasy jednonienasycone (1).

W treści, która zalega w żwaczu, tylko krótko po spożyciu pokarmu panują warunki względne tlenowe. Być może w tym okresie tlen i NADPH są wykorzystywane do syntezy wielonienasyconych kwasów. Proces ten jednak wydaje się mieć tylko teoretyczne znaczenie. Z doświadczeń Felińskiego i Kurpiosa przeprowadzonych z bakteriami żwacza *in vitro* wynika, że kwas decenowy o dwóch podwójnych wiązańach, będący mieszaniną form cis i trans, może być wykorzystywany do syntezy nienasyconych kwasów tłuszczowych pochodnych  $C_{18}$ . Zgodnie z zaproponowanym przez Lynena (23) schematem syntezy kwasów tłuszczowych, kwasy o krótszym łańcuchu węglowym mogą być źródłem do syntezy kwasów o dłuższym łańcuchu tak nasyconych jak i mononienasyconych. Nadal pozostaje sprawa kontrowersyjna co do syntezy wielonienasyconych kwasów przez bakterie.

Jeszcze mniej wiemy o biosyntezie wyższych wielonienasyconych kwasów przez organizm wymoczków. Meyer i Heltz (24) używając wymoczków z gatunków *Crithidia*, *Leishmania tarentolae* i *Leptomonas Leptoglossi* stwierdzili, że kwasy oleinowy, linolowy i linolenowy stanowiły ponad 50% wszystkich kwasów tłuszczowych. Zaobserwowano poza tym, że kwasy palmitynowy i stearynowy pod wpływem odpowiednich enzymów z wymoczków ulegają desaturacji. Powstają mono- i wielonienasycone kwasy tłuszczowe. Drugie podwójne wiązanie powstawało w kierunku grupy karboksylowej w stosunku do pierwszego, co umożliwiało z kolei syntezę takich związków jak kwas gamma-linolenowy i arachidonowy. W doświadczeniu z *C. fasciculata* i *C. onkopelti* z octanem znakowanym  $^{14}C$  i fosforanem sodu znakowanym  $^{32}P$  stwierdzono, że związki te były wykorzystywane do syntezy trójglicerydów, estrów cholesterolu, wolnych kwasów tłuszczowych i fosfolipidów.

Ze względu na obecność od 1 do 2 milionów wymoczków w 1 ml płynnej treści żwacza oraz ze względu na obecność octanów w treści żwacza, proces syntezy wyższych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w żwaczu może zachodzić. Brak jednak ścisłych danych z tego zakresu w dostępnej literaturze.

## V. Uwagi końcowe

Z przytoczonego piśmiennictwa wynika, że w zwacu występują mono i wielonienasycone kwasy tłuszczowe pochodne kwasu stearynowego. Jest to mieszanina kwasów: oleinowego, linolowego i linolenowego oraz cała grupa izomerów optycznych i geometrycznych tych kwasów. Fakt ten ma szczególnie ważne znaczenie, gdyż te formy kwasów tłuszczowych dostają się do dalszych części przewodu pokarmowego, a następnie do krwi. Burr i Burr (2) w 1929 roku, a następnie Evans i Lepkovsky (6) w 1932 roku dowiedli, że niektóre nienasycone kwasy tłuszczowe są niezbędne w pożywieniu człowieka. Szczegółowych jednak danych z tego zakresu dostarczyli Schoenheimer i Rittenberg w 1936 r. Wykazali oni, że zwierzęta nie są zdolne do syntezy kwasu alfa-linolowego, który jest dla nich związkami egzogennym. Oseski otrzymują ten kwas z siarą i mlekiem, dorosłe przeżuwacze — razem z paszą roślinną. Nie jest też wykluczone, że jest on syntetyzowany przez mikroorganizmy bytujące w zwacu.

Wprawdzie w organizmie zwierząt może być syntetyzowany kwas podobny do kwasu linolowego o dwóch podwójnych wiązaniach umieszczonych w pozycjach 6 i 9, a nie w pozycji 9 i 12 jak w kwasie alfa-linolowym. Jest on jednak z punktu widzenia fizjologicznego bezużyteczny, ponieważ nie może być prekursorem kwasu arachidonowego i gamma-linolenowego (za 1).

W jakim stopniu zachodzi synteza kwasu alfa-linolowego w przedżołądkach przeżuwaczy, oraz w jakim stopniu kwas ten pokrywa

zapotrzebowanie dorosłego organizmu przeżuwacza — nie wiemy. Wiemy tylko, że kwas ten jest niezbędny do prawidłowego funkcjonowania organizmu.

## Piśmiennictwo

1. Bagdasarian G., Hulanicka D.: Postępy Biochemii, 11, 179, 1965.
2. Burr G. O., Burr M. M.: J. Biol. Chem., 82, 345, 1929.
3. Cunningham H. M., Loosli J. K.: J. Animal Sci., 13, 265, 1954.
4. Czerkawski J. W., Blaxter K. L.: Biochem. J., 96, 25C, 1965.
5. Erwin E. S., Sterner W., Marco G. J.: Am. Oil Chem. Soc., 40, 344, 1962.
6. Evans H. M., Lepkovsky S.: J. Biol. Chem., 96, 157, 1932.
7. Feliński L.: Zesz. Nauk. WSR w Szczecinie, 20, 27, 1965.
8. Feliński L.: Zesz. Nauk. WSR w Szczecinie, 20, 13, 1965.
9. Feliński L., Garton G. A., Lough A. K., Phillipson A. T.: Biochem. J. 90, 154, 1964.
10. Feliński L., Kurpios M.: Abstracts FEBS, Warsaw, 1966.
11. Garton G. A.: Nature, 187, 511, 1960.
12. Garton G. A.: Nutr. Abstr. Rev., 30, 1, 1960.
13. Garton G. A.: Physiol. of Digestion in the Ruminant. Butterworth Inc., Washington, D. C., 1965.
14. Garton G. A.: J. Lipid. Res., 4, 237, 1963.
15. Garton G. A.: World Rev. Nutr. Diet., 7, 225, 1967.
16. Garton G. A., Lough A. K., Viogue E.: J. Microbiol., 25, 211, 1961.
17. Garton G. A., Orford A. E.: J. Sci. Fd. Agric., 6, 142, 1955.
18. Hartman L., Shorland F. B., McDonald I. R. C.: Nature, 174, 185, 1954.
19. Hoflund S., Holmberg J., Sellmann G.: Cornell Vet., 46, 53, 1956.
20. Katz I., Keeney M.: J. Dairy Sci., 49, 967, 1966.
21. Katz I., Keeney M.: J. Dairy Sci., 49, 962, 1966.
22. Keeney M., Katz I., Allison M. J.: J. Am. Oil Chem. Soc., 39, 198, 1962.
23. Lynen F.: Fed. Proc., 20, 941, 1961.
24. Meyer H., Holz G. G.: J. Biol. Chem., 24, 5000, 1966.
25. Pytasz M.: Medycyna Wet., 1, 1, 1966.
26. Pytasz M.: Medycyna Wet., 9, 557, 1967.
27. Shorland F. B., Wennink R. O., Johns A. T., McDonald I. R. C.: Biochem. J. 67, 328, 1957.
28. Shorland F. B., Wennink R. O., Johns A. T.: Nature, 175, 1129, 1955.
29. Wad P. F. V., Scott T. W., Dawson R. M. C.: Biochem. J., 92, 60, 1964.
30. Wright D. E.: Nature, 184, 875, 1959.
31. Wright D. E.: Nature, 185, 546, 1960.
32. Viviani R., Lenaz G.: Inst. Chim. Biol., 39, 1836, 1963.

Adres autora: doc. dr. Leon Feliński, Szczecin, ul. Brońskiego 1.

MARIAN GRUNDBOECK, Z. BIEGANOWSKA-KLAMUT, KRYSZYNA CIEMIEGA,  
E. KOZERA, K. LEZIAK, M. RUSZKOWSKI

## Zmiany w odczynowości układu białokrwinkowego u myszy, których rodzice otrzymywali w paszy pszenicę traktowaną preparatem CCC (chlorkiem 2 chloroetylu trójmetyloamoni)

Pracownia Patologii Komórkowej Instytutu Weterynarii w Puławach  
Kierownik: doc. dr M. GRUNDBOECK

We wstępnych badaniach stwierdzono, że karmienie myszy pszenicą wyprodukowaną przy użyciu chlorku chlorocholiny (CCC) nie wywiera widocznego wpływu na biały obraz krwi (1). Jakkolwiek w powyższych badaniach zużycie CCC było bardzo duże (12 kg na ha), myszy karmione uzyskanym w ten sposób ziarnem wykazały niemal identyczną liczebność leukocytów oraz podobny ich skład odsetkowy jak zwierzęta kontrolne.

Celem dalszych prac przedstawionych w tym doniesieniu było stwierdzenie ewentualnego wpływu badanego ziarna na potomstwo karmionych nim zwierząt. Postanowiono mianowicie przebadać, czy układ białokrwinkowy

wykazuje odmienną odczynowość na naświetlanie promieniami rentgena u potomstwa myszy karmionych oraz niekarmionych pszenicą, wyprodukowaną przy użyciu preparatu CCC.

## Materiał i metody

Do badań użyto 58 białych myszy. 28 spośród nich pochodziło od rodziców karmionych przez trzy miesiące ziarnem pszenicy, która w okresie strzelania źdźbła została opryskana preparatem CCC w ilości 12 kg na hektar. Pozostałe 30 myszy, stanowiące kontrolę, pochodziły od rodziców karmionych ziarnem wyprodukowanym bez użycia omawianego preparatu. Zwierzęta obydwu grup karmione były od urodzenia w podobny sposób, a podawane im ziarno pochodziło z pszenicy nie spryskiwanej chlorkiem chlorocholiny.