

JANUSZ A. MADEJ, CZESŁAW KASZUBKIEWICZ,
JÓZEF SZYMCZAK*, ZDZISŁAW JOPEK**

Zawartość kwasów tłuszczowych i lipidów w białaczkowo zmienionych węzłach chłonnych bydła

Instytut Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. C. Norwida 31,
50-375 Wrocław
* Instytut Biologiczno-Farmaceutyczny Wydziału Farmacji AM, Pl. Nankera 1, 51-120 Wrocław
** Instytut Nauk Fizjologicznych Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. C. Norwida 31,
50-375 Wrocław

Indukcji procesu nowotworowego sprzyja wiele czynników, wśród których istotną rolę odgrywa destabilizacja błon biologicznych. Rolę destabilizatorów przypisuje się między innymi kwasom tłuszczowym. Pande i Mead (13) przypuszczają, że kwasy tłuszczowe wpływają na zmianę estryfikacji strukturalnych fosfolipidów z następowym gromadzeniem się lizofosfolipidów, które przez swój efekt detergentowy powodują uszkodzenie i zwiększają przepuszczalność błon komórkowych.

W związku z powyższym postanowiono określić w niniejszej pracy zawartość kwasów tłuszczowych oraz lipidów w węzłach chłonnych krów chorych na białaczkę i ocenić zjawisko destabilizacji błon biologicznych limfocyta białaczkowego.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły wycinki chłonnych węzłów szyjnych powierzchniowych (*lymphonodi cervicales superficiales*) 14 krów rasy nbc, 5—7 letnich, chorych na białaczkę limfatyczną. W zmienionych tkankach, weryfikowanych histopatologicznie, oznaczano poziom lipidów i estrów 10 kwasów tłuszczowych. Estrahowano 1 g zhomogenizowanej w stanie zamrożenia tkanki, przy użyciu 30 cm³ roztworu chloroformu i metanolu w stosunku 1:1. W celu oddzielenia warstwy chloroformowej roztwór rozcieńczano 10 cm³ 10% roztworu NaCl. Roztwór po osuszeniu bezwodnym siarczanem sodu i odsączeniu uzupełniano do objętości 20 cm³. Zawartość lipidów oznaczano wagowo po odparowaniu 10 cm³ roztworu chloroformowego.

Oznaczanie składu kwasów tłuszczowych wykonano metodą chromatografii gazowej estrów metylowych wg Szymczaka (17). Do rozdzielu estrów użyto chromatografu gazowego z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym firmy Mera-Elpo, typ N-503. Kolumna o długości 2 m i średnicy 4 mm zawierała fazę stacjonarną, składającą się z 3% smaru silikonowego Silar

5 cp na nośniku Gas-Chrom Q 100/120 mesh. Temperatura kolumny: 458°K, temp. dozownika i detektora 503°K. Dawki roztworu: 1 µl, szybkość taśmy rejestratora: 30 cm/h, czas rozdzielu 30 minut.

Kontrolę stanowiły wycinki węzłów chłonnych 7 krów zdrowych pochodzących z tego samego rejonu kraju.

Wyniki i omówienie

Badaniem mikroskopowym stwierdzono we wszystkich wycinkach z węzłów chłonnych krów chorych jednolity naciek komórek limfoidalnych, charakterystyczny dla białaczki limfatycznej.

Poziom lipidów i estrów kwasów tłuszczowych podano w tab. 1, zaś wybrane chromatogramy od zwierzęcia chorego na białaczkę i od zdrowego na ryc. 1 i 2.

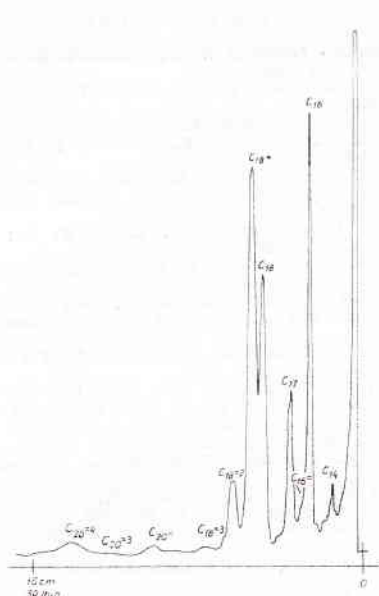
W węzłach chłonnych krów białaczkowych ogólna ilość kwasów tłuszczowych nienasyconych (tzw. PUFA — polyunsaturated fatty acids) wynosiła 59,5, a więc była wyższa w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi (zdrowymi) o 5,7. Kwasy tłuszczowe wchodzące w skład membran komórek zwierzęcych są prawie wyłącznie związkami jednokarboksylowymi o parzystej liczbie atomów C; najczęściej 16 i 18. Wchodzą one w skład tłuszczów prostych, zmagazynowanych jako trójglicerydy oraz złożonych (fosfolipidy, glikolipidy), które są nieodzowne dla tworzenia struktur komórkowych, szczególnie błon i ziarnistości (9). W większości tkanek kwasy tłuszczowe są utleniane (betaoksydacja) lub też gromadzone jako trójglicerydy czy estry z acetylo-CoA (9).

W węzłach chłonnych krów chorych na białaczkę limfatyczną obserwowano charaktery-

Tab. 1. Poziom lipidów i estrów kwasów tłuszczowych w homogenatach węzłów chłonnych krów białaczkowych i zdrowych

Grupa	% Lipidów	Kwas mirystynowy C14	Kwas palmitynowy C16	Kwas palmitolejowy C16=	Kwas stearynowy C18	Kwas olejowy C18=	Kwas linolowy C18=2	Kwas linolenowy C18=3	Kwas eikozenowy C20=	Kwas eikozatrienowy C20=3	Kwas arachidonowy C20=4
Kontrolna (zdrowe)	$\bar{x}$ 3,0 s 1,2 V 38,2	1,4 0,29 21,3	21,2 3,20 15,1	5,7 2,06 36,5	20,5 3,78 18,4	33,1 2,84 8,6	5,7 1,53 26,9	0,6 0,36 56,7	0,2 0,39 175,0	— — —	8,5 3,33 39,3
Doświadczalna (białaczka)	$\bar{x}$ 2,2 s 0,46 V 20,8	0,8 0,26 31,0	19,7 2,07 10,5	5,6 2,02 35,0	17,9* 3,84 21,5	34,9 3,45 9,9	9,8* 3,03 30,9	1,0* 0,35 36,8	1,7* 1,65 97,0	1,3 — —	6,5* 2,3 35,4

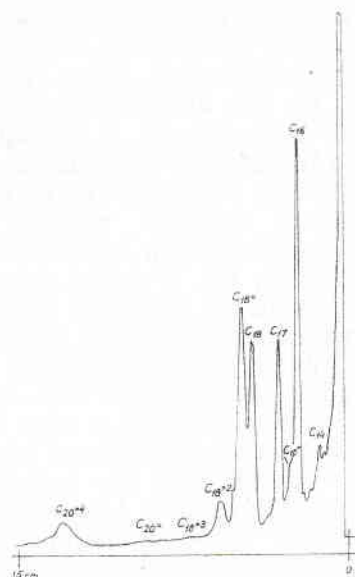
Objaśnienie: * — istotność na poziomie $\alpha \leq 0,001$.



Ryc. 1. Chromatogram poziomu estrów kwasów tłuszczowych w węźle chłonnym krwi chorej na białaczkę limfatyczną

Objaśnienia: C_{14} — kwas mirystynowy, C_{16} — kwas palmitynowy, C_{17} — kwas margarynowy (wzorec wewnętrzny), C_{18} — kwas stearynowy, C_{18}^* — kwas palmitoolejowy, C_{19} — kwas olejowy, $C_{18} = 2$ — kwas linolowy, $C_{18} = 3$ — kwas linolenowy, C_{20} — kwas eikozenowy, C_{22} — kwas eikozatrienowy, C_{24} — kwas arachidonowy.

styczne, statystycznie istotne zwiększenie się ilości kwasów tłuszczowych nienasyconych tj. kwasu eikozenowego, linolowego i linolenowego, zmniejszenie się natomiast ilości kwasu arachidonowego oraz stearynowego. W ilości pozostałych kwasów tłuszczowych nie stwierdzono istotnie znamienych różnic. Spadek ilości kwasów arachidonowego i stearynowego wiąże się prawdopodobnie ze znacznym zaburzeniem procesów beta-oksydacji w tkance nowotworowej. Zwiększona z kolei ilość kwasów tłuszczowych nienasyconych wskazuje, że w tkankach białaczkowych dochodzi do odwodoryniania w większym stopniu kwasów tłuszczowych nasyconych aniżeli w tkankach pra-

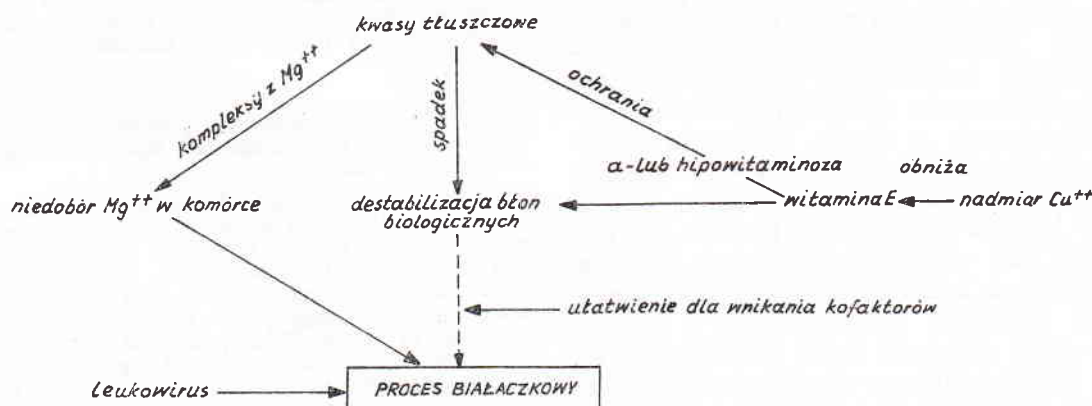


Ryc. 2. Chromatogram poziomu estrów kwasów tłuszczowych w węźle chłonnym krwi kontrolnej (zdrowej)

Objaśnienia: jak na ryc. 1.

widłowych. Na szczególną uwagę zasługuje spadek w tkankach białaczkowych ilości kwasu arachidonowego, ponieważ obecnie uważa się (13), że odgrywa on szczególną rolę w destabilizacji błon biologicznych. Można przypuszczać, że spadek poziomu kwasu arachidonowego prowadzi do uszkodzenia i zwiększonej przepuszczalności błon biologicznych komórek białaczkowych, czego wyrazem może być, stwierdzana we wcześniejszych badaniach (7), wyższa kumulacja niektórych metali ciężkich w tkankach białaczkowo zmienionych, aniżeli w tkankach zdrowych.

Stabilizujący wpływ na błony biologiczne wywiera witamina E. Jest on wynikiem działania tokoferolaktenu, produktu przemiany tokoferolu, który ma zdolność reagowania i tworzenia połączeń z lipidami błon lizosomów, w wyniku czego dochodzi do zwiększenia ich gru-



Objaśnienia: ————— droga udowodniona, - - - - - droga prawdopodobna

Ryc. 3. Schemat udowodnionego i prawdopodobnego rozwoju procesu białaczkowego

Objaśnienia: ————— droga udowodniona, - - - - - droga prawdopodobna.

bości (3). Zarówno kwasy tłuszczowe nienasycone, jak i lipidy komórek są chronione przed nadmiernym utlenianiem przez witaminę E (10, 12, 16, 18, 24). Jak wynika z wcześniejszych badań własnych (8) w ustroju chorym na białaczkę limfatyczną dochodzi do wyraźnego spadku ilości witaminy E w narządach, prawdopodobnie wskutek wzrostu poziomu miedzi, która jest jednym z antagonistów antyoksydantów (15, 16). W takiej sytuacji należałoby spodziewać się obniżenia ilości kwasów tłuszczowych nienasyconych w tkankach białaczkowych. Jednakże obserwowano zjawisko odwrotne, gdyż ogólna ilość PUFA u zwierząt białaczkowych wynosiła 59,5, a więc była wyższa w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi (zdrowymi — 53,8). Fakt ten jest trudny do jednoznacznej interpretacji i sugeruje, że rolę antyoksydantów, oprócz witaminy E, mogą spełniać także inne czynniki.

Kwasy tłuszczowe, tworząc kompleksy z magnezem, pogłębiają jego niedobór w komórce (9), co przyspiesza indukcję procesu białaczkowego zarówno u ludzi, jak i zwierząt. Obecne, jak i wcześniejsze badania (7, 8) upoważniają do przedstawienia schematu, wg którego zwiększona przepuszczalność błon biologicznych może ułatwiać wnikanie do komórek czynników kofaktorowych białaczki (ryc. 3). Na możliwość niekorzystnego działania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w powstawaniu nowotworów u ludzi zwrócili uwagę Pearce i Dayton (14). Stwierdzili, że spożywanie przez ludzi większych ilości niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych w diecie powoduje nasilenie występowania samoistnych nowotworów. Interpretacja wyników Pearce i Daytona (14) została podważona przez Heydena (6), który stwierdził na podstawie analizy wyników ww. autorów, brak istnienia dodatniej korelacji pomiędzy śmiertelnością na raka i okresem stosowania zwiększonej ilości PUFA w pożywieniu. Carroll i wsp. (1, 2) oraz Gammol i wsp. (4) stwierdzili u szczurów możliwość przyspieszenia powstawania doświadczalnych nowotworów sutka przy nadmiernym spożywaniu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w diecie. Zwierzęta otrzymujące tłuszcz nasycony wykazywały opóźnione powstawanie raka sutka. Podobne wyniki u myszy szczepu C₃H uzyskał Harman (5). Serię badań nad udziałem nasyconych kwasów tłuszczowych w hamowaniu *in vitro* przeszczepialnych białaczek limfatycznych u myszy szczepu AKR wykonali liczni autorzy (11, 19, 22, 23). Tolnai i Morgan (20, 21) stwierdzili, że hamujący wpływ na rozwój *in vitro* nowotworów typu: *lymphosarcoma* 6 C₃HED, *sarcoma* Ehrlicha i *carcinoma mammae* TA₃ u myszy, wywierają zarówno kwasy tłuszczowe nasycone, jak i nienasycone.

Piśmiennictwo

1. Carroll K. K., Gammol E. B., Plumkett E. R.: Can. med. Ass. J. 98, 590, 1968.
2. Carroll K. K., Khor H. T.: Progr. Biochem. Pharmacol. 10, 308, 1975.
3. Fukuzawa K.: Biochem. Pharmacol. 20, 279, 1971.
4. Gammol E. A., Carroll K. K., Plumkett E. R.: Cancer Res. 27, 1737, 1967.
5. Harman D.: Inter. Cong. Gerontol. 5, 259, 1965.
6. Heyden S.: The role of fats in human nutrition. Acad. Press. London, 1975.
7. Jopek Z., Kaszubkiewicz C., Madej J. A.: Arch. exp. Vet. Med. 2, 221, 1980.
8. Kaszubkiewicz C., Madej J. A., Trębusiewicz B.: Medycyna Wet. 37, 151, 1981.
9. Michorowski B.: Pol. Tyg. lek. 37, 1467, 1979.
10. Molenaar J., Vos J., Hommes F. A.: Witam. Rorm. 30, 45, 1972.
11. Morgan J. F., Tolnai S., Townsend G. F.: Can. J. Biochem. Physiol. 38, 597, 1960.
12. Ostrowski J., Kryński J.: Pol. Tyg. lek. 18, 771, 1976.
13. Pande S. V., Mead J. F.: J. biol. Chem. 23, 6180, 1968.
14. Pearce M. L., Dayton S.: Lancet 1, 464, 1971.
15. Schmid A., Richter E.: Dt. tierärztl. Wschr. 5, 212, 1976.
16. Smith G. J., Dunkley W. L.: Archs Biochem. Biophys. 38, 46, 1962.
17. Szymczak J.: Diag. Lab. 5, 221, 1979.
18. Tappel A. L.: Fedn Proc. 24, 73, 1965.
19. Tolnai S., Morgan J. F.: Can. J. Biochem. Physiol. 39, 713, 1961.
20. Tolnai S., Morgan J. F.: Can. J. Biochem. Physiol. 40, 869, 1962.
21. Tolnai S., Morgan J. F.: Can. J. Biochem. Physiol. 40, 1367, 1962.
22. Townsend G. F., Morgan J. F., Hazlett B.: Nature, Lond. 183, 1270, 1959.
23. Townsend G. F., Morgan J. F., Tolnai S., Hazlett B., Morton H. J., Shuel R. W.: Cancer Res. 20, 503, 1960.
24. Witting L. A.: Fedn Proc. 24, 912, 1965.

Adres autora: dr Janusz A. Madej, ul. Liskiego 4/5, 50-340 Wrocław.

Мадель Я. А., Кашубкевич Ч., Шимчак Ю., Йопек З. — Содержание жирных кислот и липидов в лейкоэмически измененных лимфатических узлах скота

В гомогенатах лимфатических узлов коров, больных лимфатической лейкемией, а также у здоровых определяли уровень липидов и эфиров 10 жирных кислот методом газовой хроматографии. У лейкоэмических животных обнаружили уменьшение количества арахидиновой C₂₀⁼⁴ и стеариновой C₁₈ кислот, иногда наличие эйкозотриеновой C₂₀⁼³, линолевой C₁₈⁼² и линоленовой C₁₈⁼³. Общее количество ненасыщенных кислот у лейкоэмических коров составляло 59,5, значит, было выше по сравнению со здоровыми животными на 5,7. Понижение количества арахидиновой и стеариновой кислот связано, вероятно, со значительными расстройствами процессов бета-оксидации в опухолевой ткани. Увеличенное же число жирных ненасыщенных кислот показывает, что в лейкоэмических тканях происходит большая дегидрогенизация чем в правильных тканях.

Madej J. A., Kaszubkiewicz C., Szymczak J., Jopek Z.: The content of fatty acids and lipids in lymph nodes of leukaemic cattle

By the use of gas chromatography the level of lipids and esters of 10 fatty acids in homogenates of lymph nodes of cows with a lymphatic form of leukaemia was determined. In sick animals the content of arachidic acid C₂₀⁼⁴ and stearic acid C₁₈ was lowered, sometimes eicosatriene acid C₂₀⁼³ was present, and the level of eicosene C₂₀⁼⁴, linolenic C₁₈⁼³ and linoleic C₁₈⁼² was increased. A total level of unsaturated fatty acids (PUFA) in cows with leucosis was 59.5, and it was higher in comparison to normal cows by 5.7. The decrease of arachidic and stearic acids was probably related with a significant disturbance of beta-oxidation in neoplastic tissue. Increased content of unsaturated fatty acids points to an increased dehydrogenization of saturated fatty acids in leukaemic tissue in comparison to normal one.