

CZESŁAW KASZUBKIEWICZ, JANUSZ A. MADEJ, BARBARA TRĘBUSIEWICZ

Poziom witaminy E i A w narządach krów chorych na białaczkę limfatyczną

Z Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych oraz Instytutu Higieny Produktów Zwierzęcych Wydziału Weterynaryjnego AR we Wrocławiu

Wśród wielu teorii usiłujących wyjaśnić patomechanizm procesu nowotworowego na uwagę zasługuje hipoteza Allisona (1) zakładająca, że pod działaniem czynników onkogennych lipoproteinowe błony lizosomów pękają, a wyzwolone enzymy (DNA-aza i RNA-aza) atakują własne komórki, co prowadzi do zmian genomu chromosomów z następowym przekształceniem prawidłowej komórki w nowotworową. Zjawisku temu towarzyszy, jak wynika z obserwacji Shambergera (32), powstanie w organellach komórkowych *in statu nascendi* niezwykle aktywnego O_2 po oddzieleniu się go od H_2O_2 . Tak powstały O_2 uszkadza strukturę kwasu DNA i niszczy lub zmienia komórki potomne, przez co stają się one niepodporządkowane planowi genetycznemu. Procesowi indukcji nowotworowej przeciwdziałają prawdopodobnie antyoksydanty (2, 3, 32).

Do silnych antyoksydantów należą przede wszystkim witaminy E i C oraz takie pierwiastki, jak: Se, Co, Zn i Mg (3). Witamina E zmniejsza utlenianie lipidów i kwasów tłuszczowych chroniąc tym samym przed uszkodzeniem błony lizosomalne komórki (12). Traktuje się ją zatem jako typowy stabilizator tych błon. Spadek poziomu tej witaminy wiąże się ze zwiększoną przepuszczalnością błon lizosomów i następowym ich uszkodzeniem. Rolę stabilizatora błon lizosomów spełnia również witamina A.

W związku z powyższym postanowiono określić poziom witaminy E i A w tkankach zwierząt chorych na białaczkę limfatyczną, zdaniam bowiem wielu autorów (19, 30, 31, 35) antyoksydanty mają zmniejszać indukcję nowotworową.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły wycinki wątroby, mięśnia sercowego oraz węzłów chłonnych szyjnych powierzchownych (*lymphonodi cervicales superficiales*) 35 krów rasy ncb., 4–7-letnich, chorych na białaczkę limfatyczną (grupa I). W tkankach białaczkowo zmienionych, weryfikowanych histopatologicznie, oznaczano poziom witaminy E i A. Próbkę zmydlało w alkoholowym roztworze KOH z dodatkiem pirogallolu. Frakcję niezmydlającą się ekstrahowano mieszaniną eteru etylowego i naftowego. Witaminę E otrzymywano przez rozdział przy pomocy chromatografii cienkowarstwowej na żelu krzemionkowym i oznaczano w reakcji Emmerle-Engela (11). Część ekstraktu eterowego pobierano do oznaczenia witaminy A w reakcji Carr-Price'a (6).

Kontrolę stanowiły wycinki narządów 10 zdrowych krów pochodzących z tego samego rejonu kraju (gru-

pa II). Wyniki poziomów obu witamin w narządach przedstawiono w tab. 1.

Wyniki i omówienie

Witamina E. Średni poziom witaminy E u zwierząt kontrolnych wynosił w wątrobie 10,3 ug/g tkanki, w sercu 5,7 i w węzłach chłonnych 9,8. U krów białaczkowych średni poziom tej witaminy w wątrobie wynosił 11,2, w sercu 7,3 i w węzłach chłonnych 6,5 ug/g. W porównaniu z grupą kontrolną poziom witaminy E zwiększył się w wątrobie krów białaczkowych o 10,8%, w sercu o 12,9%, obniżył się natomiast w węzłach chłonnych o 33,7%.

Tab. 1. Średnie arytmetyczne oraz najniższe i najwyższe wartości witaminy E i A w narządach krów zdrowych i chorych na białaczkę limfatyczną (wartości wyrażone dla wit. A w j.m./g tkanki, dla wit. E w ug/g tkanki)

Oznaczana witamina	Grupa	Węzły chłonne		Wątroba		Serce	
		$\bar{x}$	rozница %	$\bar{x}$	rozница %	$\bar{x}$	rozница %
E	1	9,8 4,0 – 16,4	-33,7	10,3 4,1 – 16,4	+10,8	5,7 4,1 – 10,0	+12,9
	2	6,5 0,0 – 28,3		11,2 0,0 – 40,5		7,3 0,0 – 32,0	
A	1	2,5 1,6 – 3,0	+11,2	116,1 62,5 – 218,4	+258,6	2,4 1,4 – 3,8	+12,9
	2	2,8 0,0 – 10,0		300,3 68,0 – 371,0		3,1 0,0 – 8,0	

Witamina A. Średni poziom witaminy A u zwierząt kontrolnych wynosił w wątrobie 116,1 j.m./g tkanki, w sercu 2,4 i w węzłach chłonnych 2,5. U krów białaczkowych średni poziom tej witaminy w wątrobie wynosił 300,3, w sercu 31,1 i w węzłach chłonnych 2,8 j.m./g. W porównaniu z grupą kontrolną poziom witaminy A zwiększył się w wątrobie krów białaczkowych o 258,6%, w sercu o 12,9% i w węzłach chłonnych o 11,2%.

Badaniem histopatologicznym stwierdzono, że w wątrobie i sercu nacieki komórek limfoidalnych były bardzo skąpe, w przeciwieństwie do węzłów chłonnych, w których obserwowano prawie wyłącznie komórki białaczkowe. Lokalizacja zatem witamin w węzłach chłonnych dotyczyła prawie wyłącznie komórek limfoidalnych.

Oprócz wirusów, wywołujących procesy białaczkowe w ustroju, właściwości białaczkotwórcze wykazują także substancje chemiczne i czynniki fizyczne. Większość z nich wykazuje immunosupresyjny charakter o wolnorodnikotwórczym mechanizmie działania (3). Antyoksydacyjny wpływ na wolnorodnikotwórcze immunosupresory odgrywają oprócz biopierwiast-

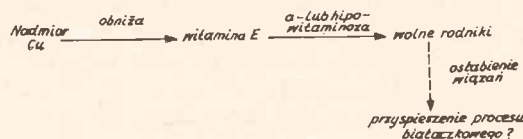
ków także witaminy E i C. Substancje te sprzyjają procesom utleniania, co może stanowić przeciwwagę procesów redukcyjnych wyzwolonych przez wirusy (3).

Z badań Blacka (4) wynika, że antyoksydanty chronią ustrój człowieka przed rakotwórczym działaniem promieniowania ultrafioletowego. Prawdopodobnie promieniowanie to działa rakotwórczo na skórę poprzez tworzenie, w procesie zwiększonej peroksydacji lipidów, nadmiernej ilości wolnych rodników — związków zaliczanych do karcinogennych (5, 9, 13—15, 26, 34). Wolne rodniki zmieniają w nieznanym sposobie cholesterol w rakotwórczy metabolit, a antyoksydanty mają zapobiegać indukcji nowotworowej na drodze zmniejszania stężenia wolnych rodników (4).

Ostrowski i Kryński (27) podają, że witamina E bierze udział w biosyntezie hemu, który stanowi grupę prostetyczną cytochromu P-450, mającego zdolność unieczynniania pewnych związków rakotwórczych.

Niezależnie od tego Bodansky (5) wykazał, że komórki nowotworowe mają niższe ciśnienie cząsteczkowe O_2 niż komórki prawidłowe, co prawdopodobnie zmniejsza niebezpieczeństwo występowania reakcji wolnorodnikowych związanych z peroksydacją lipidów toksycznych dla komórki. Zapotrzebowanie takiej komórki na antyoksydanty, jakim jest witamina E, będzie więc mniejsze (28). Shamberger (30) podaje, że witamina E obniża liczbę włókniakomięsaków wywołanych metylocholantrenem.

Przeprowadzone badania wykazały, że zawartość witaminy E w narządach krów chorych na białaczkę limfatyczną kształtuje się różnie i jest ona zależna od nasilenia zmian białaczkowych. Narządy o małym nasileniu zmian białaczkowych gromadzą większą ilość witaminy E, aniżeli tkanki zwierząt zdrowych, natomiast w narządach silnie dotkniętych procesem białaczkowym, poziom witaminy E wyraźnie spada. Do obniżenia witaminy E przyczynia się prawdopodobnie wzrost poziomu miedzi w tkankach białaczkowych (17), która jest jednym z antagonistów antyoksydantów. Niski poziom witaminy prowadzi prawdopodobnie do osłabienia wiązań wolnych rodników, które być może przyspieszają rozwój procesu białaczkowego (ryc. 1).



Ryc. 1. Schemat rozwoju procesu białaczkowego u bydła

Z badań hematologicznych wykonanych *in vitro* u ludzi chorych na różne formy białaczki (10, 16, 18—22, 33) wynika, że komórki białaczkowe mają zdolność gromadzenia antyoksydantów tylko w pewnym okresie choroby. Zdolność tę tracą przypuszczalnie w miarę rozwoju procesu nowotworowego. Przemawiają za tym badania Ostrowskiego (28), który stwierdził w homogenatach tkanki rakowej żołądka i jelit grubych u ludzi z reguły spadek poziomu witaminy E w porównaniu z tkankami zdrowymi. Autor uważa, że zmniejszenie się zawartości witaminy E w tkance nowotworowej jest skutkiem, a nie przyczyną nowotworu. Prawdopodobnie antyoksydanty hamują jedynie indukcję procesu nowotworowego, nie wpływając natomiast na wzrost nowotworu, który przebiega niezależnie od przyczyny wywołującej.

W porównaniu z witaminą E, poziom witaminy A w tkankach białaczkowych zachowuje się nieco odmiennie, a mianowicie wzrasta on we wszystkich narządach, chociaż w różnym stopniu. Przyczyny zwiększonej zawartości witaminy A, zwłaszcza w wątrobie krów białaczkowych można upatrywać we wzroście poziomu cynku, który towarzyszy zmianom białaczkowym (17). Cynk odpowiedzialny jest bowiem za gromadzenie się witaminy A w wątrobie i za jej mobilizację do surowicy krwi.

Odnosnie roli witaminy A w procesie nowotworzenia istnieją znaczne rozbieżności poglądów. Chu i Malmgren (7) stwierdzili, że witamina A hamuje wzrost nowotworów indukowanych policyklicznymi węglowodorami. Mc Michael (24) podaje, że nadmiar witaminy A wpływa hamująco na rozwój brodawczaka Shopa u królików. Podobne zjawisko, ale nie u wszystkich osobników, uzyskał Davies (8) u myszy, u których doświadczałnie wywoływał brodawczaki skóry przy pomocy antracenu. Z kolei Polliack i Levij (29) donoszą o przyspieszonym wroście raka worka policzkowego u chomików w przypadku podania im witaminy A. Zdaniem Marcha i Bicly (23) witamina A podawana kurom nie chroni ich przed białaczką, a więc nie wpływa na kształtowanie się odporności przeciwko leukozogennemu wirusowi. Podobnie Mitrovič i wsp. (25) nie obserwowali spadku odporności kurcząt przy hypowitaminiozie A na zakażenie ich wirusem Rousa, choroby Mareka i retikuloendoteliozy. Podobne spostrzeżenia u kur dorosłych poczynił Worthington (36).

Piśmiennictwo

- Allison A.: *Europ. J. Cancer* 3, 481, 1968.
- Aleksandrowicz J.: *Wiedza stwarza nadzieję*. WP, 1975.
- Aleksandrowicz J., Kwiatkowski A.: *Problemy* 11, 24, 1979.
- Black L. K.: *Cancer Res.* 33, 2034, 1973.
- Bodansky O.: *Cancer, Philad.* 33, 412, 1975.
- Carr F. H., Price E. A.: *J. Biochem.* 20, 497, 1926.
- Chu E. W., Malmgren R. A.: *Cancer Res.* 25, 884, 1965.
- Davies R. C.: *Cancer Res.* 27, 237, 1967.
- Demopoulos H. B.: *Fed. Rec.* 32, 1359, 1973.
- Duchesne J.: *J. Theor. Biol.* 66, 137, 1977.
- Emmerle A., Engel C.: *Rec. Trav. Chim.* 57, 1351, 1938.
- Gallagher C. H.: *Nutritional factors and enzymological disturbances in animal*. BIV Verlagsgesell. München, 1964.
- Georgieff K. K.: *Science* 173, 537, 1971.
- Harr J. R.: *Clin. Toxicol.* 5, 187, 1972.
- Harman D.: *Rad. Res.* 16, 753, 1962.
- Hartington J. S.: *Adv. Cancer Res.* 10, 247, 1967.

17. Jopek Z., Kaszubkiewicz C., Madej J. A.: Arch. exp. Vet. Med. (w druku).
18. Lohmann W., Schreiber J., Strobelt W., Müller-Eckhard Ch.: Blut 39, 317, 1979.
19. Lohmann W., Greulich W., Döll G.: Blut 39, 327, 1979.
20. Lohmann W., Schreiber J., Gerhard H., Breithaupt H., Löffler H., Pralle H.: Blut 39, 147, 1979.
21. Lohmann W., Lange R.: Z. Naturf. 34 c, 546, 1979.
22. Lohmann W., Schreiber J., Greulich W.: Z. Naturf. 34 c, 550, 1979.
23. March B. E., Bicy J.: Nature, Lond. 214, 287, 1967.
24. Mc Michael H.: Cancer Res. 25, 947, 1965.
25. Mitrović M., Marusich W. L., Deutsch D.: Poult. Sci 48, 1633, 1969.
26. Neish W. J. P., Rylett A.: Biochem. Pharmacol. 12, 893, 1963.
27. Ostrowski J., Kryński J.: Pol. Tyg. lek. 31, 771, 1976.
28. Ostrowski J.: Pol. Tyg. lek. 50, 1955, 1979.
29. Pollack A., Levi J. S.: Nature, Lond. 216, 187, 1967.
30. Shamberger R. J.: J. natn. Cancer Inst. 44, 931, 1970.
31. Shamberger R. J.: Experientia 22, 116, 1968.
32. Shamberger R. J.: Cleveland Clin. Quart. 39, 119, 1972.
33. Shuster C. W.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 90, 423, 1955.
34. Tappel A. L.: Am. J. clin. Nutr. 23, 1137, 1970.
35. Wattenberg L. W.: Am. J. dig. Dis. 19, 947, 1974.
36. Worthington B. S.: J. Am. diet. Ass. 65, 123, 1974.

Adres autora: dr Janusz A. Madej, ul. Nowowiejska 118/5, 50-340 Wrocław.

Кашубкевич Ч., Мадей Я. А., Трёмбусевич Б. — **Уровень витаминов Е и А в органах коров, больных лимфатической лейкемией.**

В печени, сердце и лимфатических узлах лейкоэмических коров определили уровень витаминов Е и А. Уровень витамина Е у лейкоэмических коров зависит от интенсивности лейкоэмических изменений. Органы с малой интенсивностью изменений накапливают большую часть этого витамина чем тка-

ни здоровых животных, в органах же, подвергнутых лейкемии, уровень витамина Е отчетливо падает. Низкий уровень витамина Е ведет, вероятно, к ослаблению соединений свободных радикалов и ускорению лейкоэмического процесса. Уровень витамина А в лейкоэмических тканях ведет себя иначе, а именно растет он во всех исследуемых органах, хотя в различной степени. Причины увеличенного количества витамина А, особенно в печени лейкоэмических коров, можно усматривать в росте уровня цинка, сопутствующем лейкоэмическим переменам.

Kaszubkiewicz Cz., Madej J. A., Trębusiewicz B. — **The level of vitamins E and A in the organ of cows with lymphatic leukaemia.**

The level of vitamin E and vitamin A was determined in the liver heart and lymph nodes of leukaemic cows. The level of vitamin E in leukaemic cows was related to the intensity of leukaemic lesions. In organs revealing the lesions of a low intensity higher quantities of this vitamin were found, and in organs with intensive leukaemic lesions a significant decrease of the level of this vitamin was noted. Low level of the vitamin E leads probably to impairing of free radicals binding and promoting leukaemic process. The level of vitamin A in leukaemic tissues showed a different pattern. It increased at various degree in the organs studied. The cause of this increase of the vitamin A, especially in the liver of leukaemic cows can be related to the increase of Zn content, which accompanied leukaemic lesions.

MARIA MINTA, BOGUMIŁ BIERNACKI

Embriotoksyczność i teratogenność etefonu — chemicznego regulatora procesów biologicznych roślin

Z Zakładu Farmakologii i Toksykologii Instytutu Weterynarii w Puławach

W wykazie środków ochrony roślin, dopuszczonych do obrotu handlowego w 1979 roku w Polsce znajduje się preparat o nazwie Camposan, zaliczany do V klasy toksyczności. Preparat ten produkcji VEB Chemiekombinat Bitterfeld w NRD, zawiera 35% substancji czynnej etefonu. Etefon (Ethepon, Ethrel) jest kwasem 2-chloroetylofosfonowym, z którego sporządza się w NRD preparaty użytkowe Flordimex i Camposan. Etefon używany jest w hodowli roślin do przyspieszania dojrzewania owoców pomidora, odpadania szypulek wiśni, defoliacji fasoli, zwiększania ilości kwiatów żeńskich ogórka, aktywacji wycieków żywicy z sosny, hamowania (skracania) wzrostu dzidzbla żyta i jęczmienia ozimego, pobudzania do obfitego kwitnienia niektórych roślin ozdobnych itp. Jest to bezbarwna, krystaliczna, silnie higroskopijna substancja, dobrze rozpuszczalna w wodzie i polarnych rozpuszczalnikach organicznych. Preparaty handlowe, zależnie od przeznaczenia wytwarzane są w postaci niskoprocenowych wodnych roztworów, cieczy do powlekania pni lub koncentratów do sporządzania wodnych emulsji (2).

Pomimo szerokich możliwości stosowania w praktyce rolniczej preparatów opartych na etefonie, w dostępnym piśmiennictwie mało jest danych na temat toksyczności dla zwierząt tego związku. Toksyczność ostrą etefonu (DL_{50}) podanego doustnie określa się na: 4000 mg/kg masy ciała dla szczura, 2700 mg/kg dla myszy i kury, 1900 mg/kg dla przepiórki, a dootrzewnowo: 600 mg/kg dla szczura i 670 mg/kg dla myszy (4).

W dostępnym piśmiennictwie brak jest prac dotyczących toksyczności etefonu dla zarodków i płodów zwierząt. W związku z powyższym celem było wykonać badania nad embriotoksycznością i teratogennością tego związku dla zwierząt laboratoryjnych w typowym układzie doświadczalnym (7).

Materiał i metody

Preparat. Do badań otrzymano etefon techniczny (77,4%), produkowany przez Chemiekombinat Bitterfeld w NRD i stosowany do sporządzania preparatów Flordimex i Camposan. Wodne roztwory etefonu przygotowano *ex tempore*, tak aby w przypadku chemicznych i szczurów na 100 g ciężaru ciała przypadali