

MIROSLAW M. MICHALSKI

# Poziom kwasów tłuszczowych w wątrobie świń zarażonych larwami tasiemców *Taenia hydatigena* i *Echinococcus granulosus*

Katedra Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej ART, 10-957 Olsztyn

## Summary

The level of fatty acids in pig livers infested with *Taenia hydatigena* and *Echinococcus granulosus*

The studies were carried out on pig livers infested with the larvae of *T. hydatigena* and *E. granulosus* occurring in dogs (group I – livers with 1–3 larvae, group II – livers with more than 3 larvae). Normal livers free from infestation served as controls. 17 fatty acids were determined in the livers: 6 saturated acids (C<sub>14:0</sub> – C<sub>18:0</sub>, C<sub>20:0</sub>), 7 essential unsaturated fatty acids (C<sub>18:2</sub>, C<sub>18:3</sub>, C<sub>20:2</sub>, C<sub>20:3</sub>, C<sub>20:4</sub>, C<sub>20:5</sub>, C<sub>22:6</sub>) and four other unsaturated acids (C<sub>16:1</sub>, C<sub>17:1</sub>, C<sub>18:1</sub>, C<sub>20:1</sub>). The presence of *T. hydatigena* and *E. granulosus* larvae in the pig livers brought about a statistically significant increase of the content of pentadecanic (C<sub>15:0</sub>), arachidonic (C<sub>20:0</sub>), linolenic (C<sub>18:3</sub>) and eicosatrenic (C<sub>20:3</sub>) acids and a decrease of stearinic and arachidonic acids, not confirmed, however, statistically.

Żywicielami pośrednimi tasiemców psa – *Taenia hydatigena* i *Echinococcus granulosus* są świny, a ich larwy umiejscawiają się w wątrobie. Obecność larw, występujących często w dużej liczbie, nie tylko obniża funkcję tego narządu, ale prowadzi do ogólnych zaburzeń przemiany materii. Stwierdzono, że larwy tasiemców *Taenia hydatigena* i *Echinococcus granulosus* niezależnie od wielkości pęcherza uciskają przewody żółciowe, gałęzie żyły wrotnej, żył wątrobowych i prowadzą do zastoju żółci i krwi.

Inwazja larw wymienionych tasiemców u świń, określana jako bąblowica wątroby, występuje dość często. Ekstensywność inwazji w 1987 r. wynosiła w województwie olsztyńskim 5,22% (7), w latach 1992-1995 – 7,52%, a w latach 1980-1991 – 4,05% (11). Bąblowica wątroby jest powodem największych strat ubocznych surowców rzeźnych u świń (1, 6).

Wykazano (10), że inwazje tych pasożytów powodują obniżenie poziomu glikogenu i lipidów w wątrobie (8, 10) oraz jego nieregularne rozmieszczenie w komórkach wątrobowych (8), obniżenie syntezy glikogenu w wątrobie i mięśniach szkieletowych owiec (3), obniżenie poziomu kwasów tłuszczowych w wątrobie owiec (12) oraz obniżenie poziomu fosfolipidów i cholesterolu w wątrobie świń (13).

Przemiany tłuszczów w wątrobie są szybkie. Okres półodnowy tłuszczu wątroby myszy wynosi około 2,5 dnia, a kwasów tłuszczowych około 1 dnia. W wątrobie syntetyzowane są również wielonienasycone kwasy tłuszczowe z nienasyconych kwasów roślinnych (4). Wraz ze stopniem uszkodzenia przewodów żółciowych przez pasożyty w wątrobie bydła zmienia się procentowa zawartość wielu kwasów tłuszczowych (9). Wzrost zawartości dotyczy dziesięciu kwasów z tego, w przypadku kwasu mirystynowego, palmitynowego i margarynooleinowego jest to wzrost istotny statystycznie, a zmniejszenie procentowej zawartości zanotowano w przypadku siedmiu kwasów tłuszczowych, w tym istotny spadek poziomu kwasu linolowego i stearynowego. Brak jest natomiast danych na temat wpływu inwazji larw *Cysticercus tenuicollis* i *Echinococcus* na zachowanie się kwasów tłuszczowych w wątrobie świń.

Celem badań była ocena poziomu kwasów tłuszczowych w wątrobie świń zarażonej pojedynczymi i licznymi larwami *C. tenuicollis* i *Echinococcus*.

Celem badań była ocena poziomu kwasów tłuszczowych w wątrobie świń zarażonej pojedynczymi i licznymi larwami *C. tenuicollis* i *Echinococcus*.

## Materiał i metody

Badania przeprowadzono w Zakładach Mięśnych w Olsztynie, gdzie ubijane są świny pochodzące z województwa olsztyńskiego i kilku przyległych gmin województwa toruńskiego i elbląskiego.

Z wątrób zarażonych larwami tasiemców *Taenia hydatigena* i *Echinococcus granulosus* i wątrób wolnych od tej inwazji pobierano z lewego płata próby o masie około 100 g każda. Następnie wkładano do termosu z lodem w celu schłodzenia, a po dostarczeniu do laboratorium próby zamrażano do temperatury -20°C. W temperaturze tej przechowywano aż do czasu wykonania badań (około 3 miesiące). Łącznie pobrano 47 prób. Grupę doświadczalną I stanowiły próby pobrane z wątrób z 1-3 larwami tasiemców, a II – z wątrób mających powyżej trzech larw tasiemców. Kontrolę stanowiły wątroby wolne od inwazji.

Tłuszcz z wątrób pozyskiwano metodą ekstrakcyjną, stosując do tego celu mieszaninę eteru naftowego z acetonem w stosunku objętościowym 2:1 w ilości 150

cm<sup>3</sup>/próbę. Uzyskany tłuszcz w ilości od 40-60 mg poddano estryfikacji mieszaniną metanolu, chloroformu i kwasu siarkowego w stosunku objętościowym 100:100:1. Rozdział estrów metylowych kwasów tłuszczowych przeprowadzono na chromatografii gazowej PYE Unicam – seria 104 z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FLD). Warunki rozdzielania były następujące: kolumna szklana o długości 2,1 m i średnicy wewnętrznej 0,004 m wypełniona 10% EGA (adypinian glikolu etylenowego) z 2% kwasem fosforowym na Varaport 30 100/120 mesh, temperatura: detektora 523 K (250°C), kolumny 468 K (195°C), odparowywacza 493 K (220°C), gaz nośny argon o szybkości przepływu 0,0036 m<sup>3</sup>/h.

Wyniki rejestrowano za pomocą rejestratora Philips o szybkości przesuwu taśmy 0,3 m/h. Piki estrów metylowych kwasów tłuszczowych identyfikowano porównując ich czas retencji z czasami pików wzorców kwasów z mieszaniny o znanym składzie produkcji firmy Applied Science Corporation.

Wyniki przedstawiono w postaci udziału procentowego poszczególnych kwasów tłuszczowych. Łącznie oznaczono 17 kwasów tłuszczowych – 6 kwasów nasyconych (C<sub>14:0</sub>, C<sub>15:0</sub>, C<sub>16:0</sub>, C<sub>17:0</sub>, C<sub>18:0</sub>, C<sub>20:0</sub>), 7 niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych: C<sub>18:2</sub>, C<sub>18:3</sub>, C<sub>20:2</sub>, C<sub>20:3</sub>, C<sub>20:4</sub>, C<sub>20:5</sub>, C<sub>22:6</sub> oraz 4 inne kwasy nienasycone (C<sub>16:1</sub>, C<sub>17:1</sub>, C<sub>18:1</sub>, C<sub>20:1</sub>).

Otrzymane wyniki badań poddano analizie statystycznej. Wykonano ją używając programu komputerowego INSTAT, GraphPAD Software ver. 1,14, a do wyliczenia średnich arytmetycznych, średnich błędów standardowych oraz testu analizy wariancji jednoczynnikowej zastosowano test ANOVA.

## Wyniki i omówienie

Wątroby wolne od inwazji larw tasiemców jak i dotknięte inwazją nie wykazywały widocznych zmian anatomopatologicznych i morfologicznych. Wątroba ważyła średnio 2,5 kg. Na przekroju mięsz miał barwę typową dla wątroby świń, jedynie w miejscach umiejscowienia larw był nieco jaśniejszy. Tylko w kilku przypadkach zauważono nieznaczny przerost mięszu tkanką łączną. Zmiany te występowały głównie w wątrobach świń zarażonych więcej niż trzema larwami tasiemców.

W grupie kwasów nasyconych stwierdzono statystycznie istotny procentowy wzrost zawartości kwasu pentadekanowego (C<sub>15:0</sub>) ( $p \leq 0,001$ ) i arachinowego (C<sub>20:0</sub>) ( $p \leq 0,05$ ) w próbach wątrób mających powyżej 3 larw tasiemców (tab. 1), a w grupie niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT) istotny procentowy wzrost zawartości dotyczył kwasu linolenowego (C<sub>18:3</sub>) w próbach wątrób grupy II ( $p \leq 0,01$ ) i ejkozatrienowego (C<sub>20:3</sub>) w wątrobach grupy I ( $p \leq 0,05$ ) i II ( $p \leq 0,01$ ) – (tab. 2).

Zmiany w procentowej zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych wydają się wskazywać na wpływ inwazji larw tasiemców na przemianę materii.

Tab. 1. Procentowa zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych w wątrobie świń

Kwas		Procentowa zawartość kwasu tłuszczowego		
symbol numeryczny	nazwa zwyczajowa	grupa		
		K	I (1-3)	II (> 3)
C <sub>14:0</sub>	mirystynowy	0,425	0,484	0,525
C <sub>15:0</sub>	pentadekanowy	0,045 <sup>A</sup>	0,067 <sup>A</sup>	0,150 <sup>B</sup>
C <sub>16:0</sub>	palmitynowy	16,316	16,550	16,675
C <sub>17:0</sub>	margarynowy	0,709	0,737	0,984
C <sub>18:0</sub>	stearynowy	26,599	25,855	25,881
C <sub>20:0</sub>	arachinowy	0,101 <sup>a</sup>	0,171 <sup>a</sup>	0,244 <sup>b</sup>

Objaśnienia: a, b – średnie oznaczone różnymi małymi literami różnią się istotnie w porównaniu do grupy kontrolnej przy  $p \leq 0,05$ ; A, B – dużymi literami przy  $p \leq 0,01$ .

Tab. 2. Procentowa zawartość niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych w wątrobie świń

Kwas		Procentowa zawartość kwasu tłuszczowego		
symbol numeryczny	nazwa zwyczajowa	grupa		
		K	I (1-3)	II (> 3)
C <sub>18:2</sub>	linolowy	13,166	12,923	15,015
C <sub>18:3</sub>	linolenowy	0,312 <sup>A</sup>	0,314 <sup>A</sup>	0,772 <sup>B</sup>
C <sub>20:2</sub>	ejkozadienowy	0,570	0,627	0,692
C <sub>20:3</sub>	ejkozatrienowy	0,481 <sup>a, A</sup>	0,852 <sup>b</sup>	1,141 <sup>B</sup>
C <sub>20:4</sub>	arachidonowy	12,786	12,831	10,745
C <sub>20:5</sub>	ejkozapentaenowy	1,100	1,218	1,471
C <sub>22:6</sub>	dokozaheksaenowy	1,846	2,159	2,697

Objaśnienia: jak w tabeli 1.

NNKT pełnią w organizmie funkcje strukturalne, biorąc udział w przemianie związków pośrednich, regulują czynności ustroju. Są prekursorami hormonów tkankowych (prostaglandyn) występujących w płynach ustrojowych i tkankach. Niedobór NNKT powoduje zahamowanie wzrostu i spadek przyrostu masy ciała, zmiany skórne, zmiany stłuszczeniowe wątroby, zwiększenie łamliwości naczyń włosowatych, uszkodzenie nerek, osłabienie napięcia mięśniowego i kurczliwości mięśnia sercowego. Nadmiar NNKT może z kolei wstrzymać syntezę prostaglandyn i obniżyć wydzielanie cholesterolu do wątroby (5).

W grupie innych nienasyconych kwasów tłuszczowych stwierdzono procentowy wzrost zawartości kwasu margarynooleinowego oraz obniżenie procentowej zawartości kwasu oleinowego i ejkozeno-

Tab. 3. Procentowa zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych w wątrobie świń

Kwas		Procentowa zawartość kwasu tłuszczowego		
symbol numeryczny	nazwa zwyczajowa	grupa		
		K	I (1-3)	II (>3)
C <sub>16:1</sub>	palmitoleinowy	1,836	1,784	1,836
C <sub>17:1</sub>	margarynooleinowy	0,262	0,255	0,376
C <sub>18:1</sub>	oleinowy	23,130	22,882	19,375
C <sub>20:1</sub>	ejkozenowy	0,324	0,293	0,294

wego w stosunku do grupy kontrolnej (tab. 3). Kwasy nienasycone należące do tej grupy są składnikami budulcowymi komórek, fosfolipidów błon komórkowych i mitochondrialnych.

Spośród wyizolowanych z wątroby świń 17 kwasów tłuszczowych procentowa zawartość kwasu pentadekanowego, margarynowego, arachinowego, linolowego, linolenowego, ejkozadienowego, ejkozatrienowego, eikozapentaenowego, dokozaheksaenowego i margarynooleinowego w wątrobie świń głównie grupy II była podwyższona w porównaniu do kontroli, w tym dla kwasu pentadekanowego (tab. 1), arachinowego (tab. 1) i linolenowego (tab. 2) wzrost był statystycznie istotny, a dla kwasu ejkozatrienowego (tab. 2) wzrost był istotny statystycznie w obydwu grupach doświadczalnych ( $p \leq 0,05$  i  $p \leq 0,01$ ). Procentowa zawartość kwasu stearynowego, arachidonowego, oleinowego i ejkozenowego była nieznacznie niższa niż w grupie kontrolnej. Obniżenie to nie było statystycznie istotne.

Vosokoboinik i wsp. (13) stwierdzili przy eksperymentalnej echinokokozie u świń istotny statystycznie spadek poziomu fosfolipidów w wątrobie w stosunku do grupy kontrolnej oraz cholesterolu. Z kolei poziom wolnych kwasów tłuszczowych w surowicy krwi był obniżony w pierwszych 3 miesiącach po zarażeniu, a w dalszych 8 miesiącach nastąpiło zwiększenie ich poziomu, z maksymalnym wzrostem w 280 dni po zarażeniu. Vessal i wsp. (12) stwierdzili w wątrobach owiec z larwami tasiemca *Echinococcus granulosus* obniżenie procentowej zawartości kwasu palmitynowego (C<sub>16:0</sub>) i arachinowego (C<sub>20:0</sub>) oraz, podobnie jak to miało miejsce w badaniach własnych, podwyższenie procentowej zawartości kwasu linolowego (C<sub>18:2</sub>), mirystynowego (C<sub>14:0</sub>), stearynowego (C<sub>18:0</sub>) i obniżenie procentowej zawartości kwasu oleinowego (C<sub>18:1</sub>).

Badania przeprowadzone na bydle zarażonym motylicą wątrobową wykazały, że uszkodzenie wątrób przez *Fasciola hepatica* prowadzi do znacznych zaburzeń w gospodarce tłuszczowej zarażonych zwie-

rząt (9). U młodego bydła wzrasta poziom kwasu margarynooleinowego, dokozaheksaenowego, linolenowego i pentadekanowego, a u krów starszych – margarynooleinowego. Obniżona jest natomiast procentowa zawartość kwasu arachidonowego (młode bydło) i stearynowego (krowy).

Przedstawione wyniki badań wskazują, że obecność larw tasiemców *T. hydatigena* i *E. granulosus* w wątrobie świń powoduje zmiany poziomu niektórych kwasów tłuszczowych. Następuje mianowicie istotny wzrost zawartości kwasu pentadekanowego, arachinowego, linolenowego i ejkozatrienowego oraz obniżenie poziomu kwasu stearynowego i arachidonowego, co jednak nie zostało potwierdzone statystycznie.

#### Piśmiennictwo

- Aleksandrowska I., Borowski H., Leuczyński J., Szczuka R., Walkowiak E., Wityk A., Zieliński E.: Medycyna Wet. 26, 328, 1970.
- Curca D., Fotache-Tanasescu C.: Medicina Veterinara 28, 55, 1985.
- Evranova V. G., Mosina S. K.: Ucenye Zapiski Kazanskogo Vet. Inst. 96, 218, 1965.
- Hood R. L., Allen C. E.: J. Lipid Res. 21, 1132, 1980.
- Kuczmarczyk J., Migdat W.: Post. Nauk Roln. 6, 67, 1985.
- Lis H.: Medycyna Wet. 44, 519, 1988.
- Lis H.: Medycyna Wet. 45, 92, 1989.
- Małygin L. A.: Trudy Gor'kovskogo Sel'skochozjajstv. Inst. 149, 6, 1980.
- Michalski M. M.: Zachowanie się kwasów tłuszczowych w wątrobie bydła dotkniętego naturalną inwazją motylicy wątrobowej (*Fasciola hepatica* L.), Praca dokt., Olsztyn 1994.
- Mercado T. I., Von Brand T.: J. Infect. Dis. 106, 95, 1960.
- Urządziński J., Radkowski M.: Medycyna Wet. 48, 564, 1992.
- Vessal M., Zekavat S. Y., Mohammadzadehk A. A.: Lipids 7, 287, 1972.
- Vosokoboinik L. V., Vasilev A. A.: Bjul. Vses. Inst. Gelmint. 7, 13, 1972.

Adres autora: dr Mirosław M. Michalski, ul. Wyszyńskiego 24/27, 10-457 Olsztyn

**NICHOLAS R. A. J., SANTINI F. G., CLARK K. M., PALMER N. M. A., DE SANTIS P., BASHIRUDDIN J. B.:** Porównanie wyników odczynów serologicznych i zmian sekcyjnych w płucach w diagnostyce zakaźnej pleuropneumonii bydła w dwóch grupach bydła we Włoszech. (A comparison of serological tests and gross lung pathology for detecting contagious bovine pleuropneumonia in two groups of Italian cattle). Vet. Rec. 139, 89–93, 1996 (4)

Porównano przydatność metody Western blott i dot blott z odczynem wiązania dopełniacza, ELISA, badaniem hodowlanym oraz badaniem sekcyjnym płuc do wykrywania zakażeń wywołanych przez *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides* SC. Badaniem objęto dwie grupy: grupę A liczącą 20 buhajków w wieku 16–18 miesięcy rasy charolais w Południowym Piemontie oraz grupę B liczącą 17 buhajków w tym samym wieku z wschodniego Piemontu. Wszystkie buhajki pochodziły ze stad reagujących pozytywnie w odczynie wiązania dopełniacza w kierunku zakażenia *M. mycoides subsp. mycoides*, ale nie wykazywały objawów chorobowych. W grupie A u 7 sztuk występowały charakterystyczne zmiany w płucach, 6 sztuk reagowało w odczynie wiązania dopełniacza a 9 w teście Western blott. Wśród sztuk reagujących w teście Western blott u 6 stwierdzono przeciwciała reagujące w odczynie wiązania dopełniacza. W grupie B u 7 zwierząt występowały charakterystyczne zmiany sekcyjne w płucach, 12 sztuk reagowało w odczynie wiązania dopełniacza. Czulość odczynu ELISA była mniejsza niżeli odczynu wiązania dopełniacza i Western blott. Wyniki testu dot blott były skorelowane z wynikami Western blott. *M. mycoides subsp. mycoides* wyosobniono od 4 zwierząt z grupy A i 6 z grupy B.