

MIROSLAW M. MICHALSKI

# Poziom kwasów tłuszczowych w wątrobie bydła zarażonego *Fasciola hepatica* (L.)

Katedra Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej ART, ul. M. Oczapowskiego 13, 10-957 Olsztyn-Kortowo

Michalski M.

## The level of fatty acids in the livers of cattle infected with *Fasciola hepatica* (L.)

### Summary

Investigations were conducted on the level of fatty acids in the livers of young and old cattle infected with *Fasciola hepatica*. Group I constituted livers with insignificantly thickened bile ducts; group II – livers with significantly thickened bile ducts, focuses of calcification and parenchymatouse degeneration of the liver; group III - livers with calcified bile ducts, isolated abscesses and lipids degeneration of the liver. Livers without invasion of *Fasciola hepatica* served as a control group.

Sixteen fatty acids were determined in the livers: 5 saturated acids (C14:0, C15:0, C17:0, C18:0, C16:0), 6 essential unsaturated fatty acids (C18:2, C18:3, C20:2, C20:3, C20:4, C22:6), as well as 5 other unsaturated fatty acids (C14:1, C16:1, C17:1, C18:1, C20:1).

Changes in the fatty acid level depended on the age of the investigated cattle. In the livers of young cattle a statistically significant ( $p < 0.05$ ) increase in the level of the margaroleic acid (C17:1) was observed, while in older cattle there was an increase in the levels of the following acids: palmitic acid (C16:0), myristic acid (C14:0), margaroleic acid (C17:1), as well as a decrease in the levels of stearic acid (C18:0), pentadecanoic acid (C15:0) and linoleic acid (C18:2).

Liczba bydła zarażonego motylicą wątrobową w kraju jest duża, a województwo olsztyńskie zaliczane jest do jednych z wielu, gdzie stwierdza się stale znaczną ekstensywność inwazji *F. hepatica* (8, 10, 11, 12).

Motyllica wątrobowa powoduje poważne zaburzenia w czynności wątroby, głównie w zakresie gospodarki białkowej i aktywności enzymów (7), następuje w niej także wyraźny spadek poziomu glikogenu oraz cukrów redukujących (2). W przebiegu fasciolozы, szczególnie w okresie patentnym, stwierdza się też w surowicy krwi spadek poziomu wapnia, fosforu, potasu, sodu i magnezu (5).

Wątroba jest ważnym narządem wszystkich przemian lipidowych ustroju (3, 4). Zachodzi w niej synteza kwasów tłuszczowych z glukozy, pirogronianu, octanu i innych prekursorów. Wychwytuje także wolne kwasy tłuszczowe osocza krwi i włącza je do triacylogliceroli i fosfolipidów własnych tkanek. Zawiera także aktywne układy enzymów biorące udział w syntezie i utlenianiu kwasów tłuszczowych, syntezie triacylogliceroli, fosfolipidów oraz lipoprotein osocza. Syntetyzowane są w niej również wielonienasycone kwasy tłuszczowe z nienasyconych kwasów roślinnych (6, 9).

Do poważnych zaburzeń gospodarki lipidowej dochodzi w stanach marskości wątroby i przy uszkodzeniu jej mięszu (13). Atrosi i wsp. (1) stwierdzili u krów korelację pomiędzy poziomem kwasu arachidonowego, a poziomem prostaglandyn, a także pomiędzy całkowitym poziomem fosfolipidów, a poziomem kwasu linolowego (C18:2) i arachidonowego (C20:4) w surowicy.

Celem pracy było określenie poziomu kwasów tłuszczowych w wątrobie bydła dotkniętego inwazją *Fasciola hepatica* z naturalnego zarażenia.

### Material i metody

Od zwierząt zarażonych *F. hepatica* i wolnych od tej inwazji (młode bydło w wieku 2-2,5 roku i krowy w wieku 4-7 lat), ubijanych w zakładach mięsnych w O. i S., pobierano z lewego płata wątroby próby o masie około 50 g każda. Wątroby podzielono na grupy w oparciu o rodzaj zmian anatomo-patologicznych. Grupę I u młodego bydła i krów stanowiły wątroby z nieznacznie zgrubiałymi przewodami żółciowymi, grupę II dla tych samych zwierząt – ze znacznie zgrubiałymi przewodami żółciowymi, ogniskowymi zwapnieniami i zwyrodnieniem mięszowym wątroby, a u krów wyodrębniono

dodatkowo grupę III – stanowiły ją wątroby ze zwapniałymi przewodami żółciowymi, pojedynczymi ropniami i zwyrodnieniem tłuszczowym wątroby. Jako kontrolne przyjęto wątroby wolne od inwazji. Łącznie pobrano do badań 70 prób, 32 od młodego bydła i 38 od krów.

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 z próbek tłuszcz w ilości od 40-60 mg, poddano estryfikacji mieszaniną metanolu, chloroformu i kwasu siarkowego w stosunku objętościowym 100:100:1. Rozdział estrów metylo- wych kwasów tłuszczowych przeprowadzono na chromatografie gazowym PYE Unicam – seria 104 z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FLD). Warunki rozdziału 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 metylo- wych kwasów tłuszczowych identyfikowano porównując ich czas retencji z czasami pików wzorców kwasów z mieszaniny o znanym składzie firmy Applied Science Corporation.

Wyniki przedstawiono w postaci udziału procentowego poszczególnych kwasów tłuszczowych. Łącznie oznaczono 16 kwasów tłuszczowych – 5 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>), 6 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>22:6</sub>) oraz 5 innych nienasyconych kwasów tłuszczowych (C<sub>14:1</sub>, 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. Wyniki scharakteryzowano za pomocą średniej arytmetycznej ( $\bar{x}$ ), odchylenia standardowego (s) i współczynnika zmienności (V%), a istotność różnic – testem t-Studenta.

Tab. 1. Procentowa zawartość kwasów tłuszczowych w wątrobie bydła młodego (n=32)

Symbol numeryczny	Kwas	Grupa		
		K	I	II
C <sub>18:0</sub>	Stearynowy	25,66 (2,21)	28,13 (1,97)	25,73 (0,78)
C <sub>16:0</sub>	Palmitynowy	17,96 (0,49)	17,99 (1,66)	18,35 (1,54)
C <sub>18:1</sub>	Oleinowy	17,92 (1,03)	18,43 (1,54)	19,08 (0,86)
C <sub>20:3</sub>	Ejkozatrienowy	9,56 (0,64)	7,59 (0,70)	8,05 (0,38)
C <sub>20:4</sub>	Archidonowy	7,66 (2,81)	3,36 (0,33)	2,38 (0,44)
C <sub>18:2</sub>	Linolowy	7,54 (0,58)	8,67 (0,73)	7,60 (0,38)
C <sub>22:6</sub>	Dokozaheksanowy	4,60 (0,98)	6,43 (0,94)	6,13 (0,25)
C <sub>16:1</sub>	Palmitoleinowy	2,02 (0,24)	2,14 (0,36)	2,28 (0,29)
C <sub>18:3</sub>	Linolenowy	1,56 (0,13)	1,74 (0,22)	2,13 (0,48)
C <sub>14:0</sub>	Mirystynowy	1,26 (0,09)	1,42 (0,17)	1,30 (0,16)
C <sub>17:0</sub>	Margarynowy	1,24 (0,08)	1,33 (0,12)	1,33 (0,06)
C <sub>17:1</sub>	Margarynooleinowy	0,82 <sup>a</sup> (0,04)	0,77 <sup>a</sup> (0,07)	1,03 <sup>b</sup> (0,06)
C <sub>15:0</sub>	Pantadekanowy	0,66 (0,16)	0,81 (0,16)	0,78 (0,10)
C <sub>20:2</sub>	Ejkozadienowy	0,64 (0,08)	0,56 (0,11)	0,48 (0,13)
C <sub>14:1</sub>	Oleomirystynowy	0,50 (0,08)	0,59 (0,11)	0,60 (0,04)
C <sub>20:1</sub>	Ejkozenowy	0,44 (0,13)	0,38 (0,04)	0,43 (0,08)

Objaśnienia: a, b – średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie w porównaniu do grupy kontrolnej przy p ≤ 0,05; w nawiasach – odchylenie standardowe (s).

Tab. 2. Procentowa zawartość kwasów tłuszczowych w wątrobie krów (n=38)

Kwas		Grupa			
Symbol numeryczny	Nazwa zwyczajowa	K	I	II	III
C <sub>18:0</sub>	Stearynowy	30,38 <sup>a</sup> (0,98)	26,19 <sup>a</sup> (0,69)	28,10 <sup>a</sup> (0,77)	28,10 <sup>a</sup> (2,28)
C <sub>18:1</sub>	Oleinowy	17,22 (0,70)	19,12 (1,34)	17,33 (1,01)	19,75 (1,70)
C <sub>16:0</sub>	Palmitynowy	16,31 <sup>a</sup> (0,40)	18,49 <sup>b</sup> (0,90)	16,53 <sup>a</sup> (0,72)	17,87 <sup>a</sup> (1,59)
C <sub>18:2</sub>	Linolowy	9,45 <sup>a</sup> (0,86)	9,49 <sup>a</sup> (0,52)	7,50 <sup>b</sup> (0,37)	7,35 <sup>b</sup> (0,19)
C <sub>20:3</sub>	Ejkozatrienowy	7,97 (0,58)	7,41 (0,40)	8,64 (0,70)	6,17 (0,65)
C <sub>22:6</sub>	Dokozaheksanowy	6,18 (0,66)	6,24 (0,53)	7,95 (0,85)	6,78 (0,98)
C <sub>20:4</sub>	Arachidonowy	2,92 (0,23)	3,60 (0,78)	3,06 (0,33)	3,25 (0,55)
C <sub>16:1</sub>	Palmitoleinowy	1,95 (0,12)	2,22 (0,24)	2,29 (0,22)	2,47 (0,33)
C <sub>17:0</sub>	Margarynowy	1,76 (0,12)	1,39 (0,18)	1,56 (0,09)	1,50 (0,12)
C <sub>18:3</sub>	Linolenowy	1,63 (0,16)	2,43 (0,60)	2,03 (0,18)	1,89 (0,20)
C <sub>14:0</sub>	Mirystynowy	1,29 <sup>a</sup> (0,09)	1,33 <sup>a</sup> (0,17)	1,56 <sup>b</sup> (0,06)	1,53 <sup>a</sup> (0,17)
C <sub>15:0</sub>	Pantadekanowy	0,87 <sup>a</sup> (0,07)	0,62 <sup>b</sup> (0,08)	0,96 <sup>a</sup> (0,12)	0,92 <sup>a</sup> (0,14)
C <sub>17:1</sub>	Margarynooleinowy	0,78 <sup>a</sup> (0,10)	0,80 <sup>a</sup> (0,10)	1,12 <sup>b</sup> (0,11)	1,17 <sup>b</sup> (0,15)
C <sub>14:1</sub>	Oleomirystynowy	0,69 (0,05)	0,60 (0,08)	0,82 (0,04)	0,75 (0,08)
C <sub>20:2</sub>	Ejkozadienowy	0,67 (0,14)	0,41 (0,08)	0,47 (0,09)	0,47 (0,09)
C <sub>20:1</sub>	Ejkozenowy	0,32 (0,05)	0,40 (0,17)	0,33 (0,07)	0,27 (0,02)

Objaśnienia: a, b oraz dane w nawiasach jak w tab. 1; A, B p ≤ 0,01.

## Wyniki i omówienie

Wyniki badań podano w tab. 1 i 2.

**Bydło młode.** W wątrobach bydła młodego spośród 16 stwierdzonych kwasów tłuszczowych największą zawartość stanowiły: kwas stearynowy (C<sub>18:0</sub>), palmitynowy (C<sub>16:0</sub>) i oleinowy (C<sub>18:1</sub>), a najmniejszą – kwas ejkozadienowy (C<sub>20:2</sub>), oleomirystynowy (C<sub>14:1</sub>) i ejkozenowy (C<sub>20:1</sub>).

Stwierdzono, że wzrost poziomu kwasu palmitynowego, oleinowego, dokozaheksanowego, linolenowego, margarynooleinowego, pentadekanowego i oleomirystynowego był adekwatny do stopnia uszkodzenia wątroby przez pasożyty, a np. wzrost zawartości kwasu margarynooleinowego w grupie II w stosunku do kontroli był statystycznie istotny (p < 0,05).

Natomiast obniżenie poziomu kwasu ejkozatrienowego, arachidonowego i ejkozadienowego w wątrobie bydła młodego zależało także od rodzaju zmian anatomo-patologicznych wątroby. Poziom kwasu arachidonowego obniżył się w grupie I około 2-krotnie, a w II – około 3-krotnie w stosunku do kontroli. Z kolei poziom pozostałych sześciu kwasów tłuszczowych tj. stearynowego, linolowego, palmitoleinowego, mirystynowego, margarynowego i ejkozenowego nie wykazywał większej zależności od stopnia uszkodzenia tkanki wątrobowej przez *F. hepatica*.

**Bydło starsze** (krowy). W wątrobach krow spośród 16 stwierdzonych kwasów tłuszczowych, największą zawartość stanowił kwas stearynowy (C<sub>18:0</sub>), a następnie oleinowy (C<sub>18:1</sub>) i palmitynowy (C<sub>16:0</sub>), a najmniejszą kwas oleomirystynowy (C<sub>14:1</sub>), ejkozadienowy (C<sub>20:2</sub>) i ejkozenowy (C<sub>20:1</sub>).

Biorąc pod uwagę wymienione kwasy tłuszczowe wątroby bydła stwierdzono, że różnice w ich zawartości zależne są od stopnia uszkodzenia wątroby przez *F. hepatica*. U krow różnice te wystąpiły w 8 przypadkach (kwas palmity-

nowy, mirystynowy, margarynooleinowy, linolowy i pentadekanowy –  $p < 0,05$ ) i dla kwasu stearynowego ( $p < 0,01$ ). U bydła młodego zaś tylko w jednym przypadku wzrost poziomu kwasu był statystycznie istotny ( $p < 0,05$ ) i dotyczył kwasu margarynooleinowego w grupie II.

Otrzymane wyniki wskazują, że dłużej trwająca choroba i silniej zaawansowane zmiany chorobowe wątroby wpływają na wzrost poziomu kwasu palmitynowego, mirystynowego, margarynooleinowego i obniżenie – stearynowego, linolowego oraz pentadekanowego. Analizując procentową zawartość kwasów tłuszczowych w wątrobie badanych zwierząt, stwierdzono, że w największych ilościach występują – kwas stearynowy ( $C_{18:0}$ ), palmitynowy ( $C_{16:0}$ ), oleinowy ( $C_{18:1}$ ) i ejkozatrienowy ( $C_{20:3}$ ), a najmniejszych – kwas pentadekanowy ( $C_{15:0}$ ), ejkozadienowy ( $C_{20:2}$ ), oleomirystynowy ( $C_{14:1}$ ) i ejkozenowy ( $C_{20:1}$ ) zarówno u bydła młodego jak i krów.

Poziom niektórych wymienionych kwasów tłuszczowych w wątrobie bydła młodego i krów wyraźnie różnił się. Należy przypuszczać, że było to wynikiem niejednakowego stopnia uszkodzenia wątroby i czasu trwania inwazji motylicy wątrobowej. W wątrobach bydła młodego zmiany te m.in. wpłynęły na obniżenie poziomu kwasu ejkozadienowego ( $C_{20:2}$ ), ejkozatrienowego ( $C_{20:3}$ ) i arachidonowego ( $C_{20:4}$ ). Są to tzw. niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT) należące do rodziny kwasu linolowego, wykazujące wysoką aktywność biologiczną i biorące udział w wielu ważnych procesach przemiany materii. Spadek poziomu kwasu arachidonowego ( $C_{20:4}$ ) ogranicza m.in. powstawanie prostaglandyn i fosfolipidów (1), co u młodego bydła prowadzi do zahamowania rozwoju i wzrostu.

W wątrobie krów, proces chorobowy powodowany inwazją *F. hepatica* trwał dłużej niż u bydła młodego i prowadził do zwyrodnienia mięszonego, przepelnienia krwią naczyń śródrazikowych i ropni. Tak poważne uszkodzenie wątroby spowodowało m.in. spadek poziomu kwasu linolowego ( $C_{18:2}$ ). Kwas ten jest substratem do syntezy kwasu arachidonowego i fosfolipidów oraz ejkozadienowego ( $C_{20:2}$ ). Wymienione kwasy biorą udział w przemianie materii, a szczególnie w syntezie prostaglandyn. U krów dodatkowo nastąpił spadek poziomu trzech kwasów nasyconych, tj. pentadekanowego ( $C_{15:0}$ ), margarynowego ( $C_{17:0}$ ) i stearynowego ( $C_{18:0}$ ). Należy przyjąć, że stwierdzony stan jest wynikiem silniejszego uszkodzenia wątroby przez *F. hepatica* u zwierząt starszych i dłuższego ich wpływu na ten narząd.

Stwierdzono także, że poziom niektórych kwasów tłuszczowych wzrastał wraz ze stopniem uszkodzenia wątroby przez motylice. U bydła młodego spośród NNKT nastąpił wzrost poziomu kwasu linolenowego ( $C_{18:3}$ ) i dokozaheksanowego ( $C_{22:6}$ ), a u krów – linolenowego ( $C_{18:3}$ ) i arachidonowego ( $C_{20:4}$ ).

## Wnioski

1. Inwazja *Fasciola hepatica* u bydła młodego nie powoduje tak dużych zmian w poziomie kwasów tłuszczowych jak u bydła starszego (krów).

2. W uszkodzonej przez *Fasciola hepatica* wątrobie młodego bydła dochodzi do zwiększenia poziomu kwasu margarynooleinowego, a u krów do zwiększenia poziomu kwasu palmitynowego, mirystynowego i margarynooleinowego oraz spadku poziomu kwasu stearynowego, linolowego i pentadekanowego.

## Piśmiennictwo

1. Atroshi F., Rizzo A., Kangasniemi R., Sankari S., Tyopponen T.: J. Vet. Med. 36, 702, 1989.
2. Bekajlo R.: Pol. Arch. Wet. 14, 37, 1971.
3. Bell A. W.: Prog. Lipid Res. 18, 117, 1980.
4. Bonanome M. D., Grundy S. M.: N. Engl. J. Med. 318, 1244, 1988.
5. Gundlach J. L., Sadzikowski A., Uchacz S.: Medycyna Wet. 44, 160, 1988.
6. Hood R. L., Allen C. E.: J. Lipid Res. 21, 1132, 1980.
7. Malinowska A., Tomicki Z.: Wiad. parazyt. 8, 323, 1962.
8. Michalski M. M., Gaca-Łagodzińska K., Brzeska E.: Weterynaria, Olsztyn 19, 47, 1990.
9. Smith R. H., Palmer R. M., Reeds P. J.: Biochem. J. 214, 153, 1983.
10. Szulc A.: Medycyna Wet. 21, 542, 1965.
11. Uradziński J., Radkowski M.: Medycyna Wet. 48, 564, 1992.
12. Wadowski S.: Medycyna Wet. 17, 144, 1961.
13. Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J.: Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe, PWN, Warszawa, 1979.

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

## GRILLO M. J., BARBERAN M., BLASCO J. M.: Transmisja *Brucella melitensis* z owiec na jagnięta. (Transmission of *Brucella melitensis* from sheep to lambs). Vet. Rec. 140, 602-605, 1997(23)

Celem wyjaśnienia możliwości przenoszenia pionowego oraz istnienia zakażeń latentnych u wywołanych przez *Brucella melitensis* u owiec przeprowadzono badania na 41 ciężarnych owcach reagujących dodatnio w odczynie z czerwiecią bengalską i w odczynie wiązania dopełniacza, względnie w teście alergicznym na *Brucella melitensis*. Owce pochodziły ze stad zakażonych na drodze naturalnej tym zarazkiem. Ciężarne samice trzymano w izolatorze do czasu porodu. Urodzone jagnięta w liczbie 62 utrzymywano wraz z matkami do odsadzenia, zaś matki po uboju badano bakteriologicznie w kierunku *B. melitensis*. Czarnaście owiec wydalają *B. melitensis* w okresie laktacji, od 17 sztuk wyizolowano *B. melitensis* po uboju. *B. melitensis* nie izolowano od 7 jagniąt padłych po urodzeniu pochodzących od zakażonych matek oraz od 8 seronegatywnych jagniąt z których 4 pochodziły od zakażonych matek, poddanych ubojowi pomiędzy 2 i 7 miesiącem po odsadzeniu. Od jednego seropozytywnego jagnięcia pochodzącego od matki od której nie izolowano *B. melitensis* poddanego ubojowi po 5 miesiącach po odsadzeniu izolowano *B. melitensis*. Pozostałe jagnięta badano okresowo serologicznie w kierunku zakażenia *B. melitensis*. Od 2 maciorek pochodzących od matek wolnych od zakażenia i od 2 pochodzących od zakażonych matek wyosobniono po uboju ten zarazek. Wszystkie maciorki były serologicznie negatywne.