

FELICJA DASZYŃSKA, ANDRZEJ KRYŃSKI, STEFAN NYREK

## Ceruloplazmina i miedź we krwi bydła

Katedra Chemii Fizjologicznej Wydziału Weterynaryjnego SGGW w Warszawie  
Kierownik: prof. dr STEFAN NYREK

Niniejsza praca jest kontynuacją i uzupełnieniem naszych wcześniejszych badań nad aktywnością ceruloplazminy i poziomem frakcji miedziowych w surowicy cieląt i jałówek (8), a równocześnie wstępem do bliższych studiów nad wpływem ciąży na metabolizm miedziowy. Należy dodać, że to ostatnie zagadnienie budziło zrozumiałe zainteresowanie i było przebadane dosyć dokładnie u ludzi, natomiast u zwierząt domowych znajduje się we wstępnej fazie obserwacji (5).

## Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 30 sztukach krów w wieku od 3,5 do 8 lat. Zwierzęta pozostawały na jednolitej diecie i znajdowały się w jednakowych warunkach środowiskowych. Oznaczenia przeprowadzono w okresie bezpośrednio poprzedzającym sztuczne unasiennianie. Krew pobrano z żyły jarzmowej do odpowiednio przygotowanych probówek. Do oznaczeń miedzi we krwi pełnej, płazmie i krwinkach stosowano krew heparynizowaną.

W surowicy oznaczano aktywność enzymatyczną ceruloplazminy oraz poziom miedzi bezpośrednio reagującej i całkowitej. Miedź pośrednio reagującą wyliczano z różnicy pomiędzy stężeniem miedzi całkowitej i bezpośrednio w surowicy.

Ponadto badano zawartość miedzi w płazmie, we krwi pełnej i w krwinkach. Do oznaczeń stężenia miedzi w krwinkach odcinano osocze z 10 ml krwi, a osad krwinkowy po trzykrotnym przepłukaniu roztworem fizjologicznym uzupełniano wodą podwójnie destylowaną do objętości wyjściowej. Do prób stosowano hemolizat, który traktowano podobnie jak krew pełną.

Aktywność ceruloplazminy w surowicy oznaczano metodą Ravina (11) w oparciu o enzymatyczny związek chlorowodoru parafenylenodwuaminy (PPD-Cl) inkubowanego w roztworze buforu z surowicą w temp. 37—38° przez jedną godzinę. Do pomiarów kolorymetrycznych stosowano fotokolorymetr Havemann, filtr o długości fali 530 m $\mu$  i kuwety o grubości warstwy 10 mm. Ekstynkcję odczytywano z krzywej kalibracyjnej. Wyniki aktywności enzymu podawano w wartościach ekstynkcji pomnożonej przez 1000.

Miedź całkowitą w surowicy, krwi pełnej, płazmie i w krwinkach oznaczano metodą Gublera (7) z zastosowaniem dwuetylodwutiokarbaminianu sodowego (DDTC-Na). Pomiar miedzi bezpośrednio w surowicy wykonano według metody podanej przez Gublera (6) z pominięciem hydrolizy i odbiałczania. Pomiar kolorymetryczny oznaczeń miedzi przeprowadzono na fotokolorymetrze Havemann stosując filtr o długości fali 434 m $\mu$  i kuwety o grubości 10 mm. Wyniki oznaczeń miedzi podawano w mikrogramprocentach.

W toku badań przeprowadzono szereg analiz dodatkowych, do których zaliczyć należy: badanie mikroskopowe krwi, oznaczanie poziomu hemoglobiny i hematokrytu.

Wyniki ujęto statystycznie wyliczając średnie arytmetyczne, odchylenie standardowe i średni błąd średniej arytmetycznej oraz współczynnik korelacji dla aktywności ceruloplazminy i poziomu miedzi pośredniej w surowicy (4).

## Wyniki i dyskusja

Średni poziom miedzi całkowitej w surowicy bydła uzyskany w naszych badaniach (tabela 1)

nie odbiega od danych przedstawionych w literaturze (1, 12, 13). Stężenie miedzi bezpośrednio wynosi średnio 17,6  $\mu\text{g}\%$   $\pm$  10,2. Zwraca uwagę stosunkowo duże odchylenie standardowe, które wiąże się jednak z oznaczaniem niskich stężeń miedzi. Wartości uzyskane przez nas są zbliżone do danych przedstawionych przez Bosman (3) i podobne do naszych wyników uzyskanych z badań jałówek (8).

Tab. 1. Stężenie miedzi całkowitej i bezpośredniej w surowicy bydła

Miedź całkowita surowicy w $\mu\text{g}\%$			Miedź bezpośrednia surowicy w $\mu\text{g}\%$		
$\bar{x}$	$\sigma \pm$	m	$\bar{x}$	$\sigma \pm$	m
110,1	19,8	3,6	17,6	10,2	1,95

Jak wynika z danych przedstawionych w tabeli 1 miedź bezpośrednia stanowi około 16% stężenia miedzi całkowitej w surowicy bydła.

Tab. 2. Aktywność ceruloplazminy i poziom miedzi pośredniej w surowicy bydła

Aktywność ceruloplazminy E $\times$ 1000			Miedź pośrednia surowicy w $\mu\text{g}\%$		
$\bar{x}$	$\sigma \pm$	m	$\bar{x}$	$\sigma \pm$	m
109,8	22,1	4,0	92,6	17,0	3,09

Aktywność ceruloplazminy wynosi średnio w surowicy bydłowej 109,8 jedn.  $\pm$  22,1 tabl. 2). Zwraca uwagę niska aktywność enzymatyczna surowicy. Tylko u dwóch sztuk badanych zwierząt stwierdzono wartości około 155 jednostek. Pomiedzy wynikami aktywności ceruloplazminy i poziomem miedzi pośredniej istnieje określona zależność: wzrostowi aktywności ceruloplazminy towarzyszy wzrost stężenia miedzi pośredniej surowicy. Przeprowadzona korelacja i wyliczony współczynnik korelacji  $r = + 0,86$  ( $P < 0,013$ ) wskazują na wysoką zależność dodatnią pomiędzy poziomem miedzi pośredniej a aktywnością enzymu. Fakt ten potwierdza założenie, że miedź pośrednia surowicy odpowiada miedzi związanej w białku ceruloplazminy.

Tab. 3. Stężenie miedzi we krwi pełnej, płazmie i w krwinkach

Miedź krwi pełnej $\mu\text{g}\%$			Miedź krwinek $\mu\text{g}\%$			Miedź plazmy $\mu\text{g}\%$		
$\bar{x}$	$\sigma \pm$	m	$\bar{x}$	$\sigma \pm$	m	$\bar{x}$	$\sigma \pm$	m
101,1	21,2	3,9	56,6	17,0	3,0	108,1	18,8	3,4

Z danych przedstawionych w tab. 3 wynika, że poziom miedzi zawartej w płazmie i we krwi pełnej bydła jest podobny. Uzyskane średnie wyniki są zbliżone do średniego stężenia miedzi całkowitej w surowicy (tab. 1). Nie stwierdzono różnic statystycznie znamiennych pomiędzy stężeniami miedzi całkowitej w surowicy, płazmie i krwi pełnej (porównanie przeprowadzono stosując test Studenta  $t$  przy  $P < 0,01$ ). Większość autorów (1, 2, 9, 10, 12) podaje dla stężenia miedzi we krwi pełnej wartości od 70 do 170  $\mu\text{g}\%$ . Przytoczone wyżej dane mieszczą się w tych granicach.

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących poziomu miedzi w krwinkach bydłych. Z naszych badań wynika, że zawartość miedzi w krwinkach wynosi średnio  $56,6 \mu\text{g}\% \pm 17$ .

### Wnioski

1. Poziom miedzi w surowicy, płazmie i krwi pełnej bydła utrzymuje się na podobnym poziomie i wynosi średnio w surowicy  $110,1 \mu\text{g}\% \pm 18,8$ , w płazmie  $108,1 \mu\text{g}\% \pm 18,8$  i we krwi pełnej  $101,1 \mu\text{g}\% \pm 21,2$ .

2. Zawartość miedzi w krwinkach bydłych wynosi średnio  $56,6 \mu\text{g}\% \pm 17,0$ .

3. Miedź bezpośrednio reagująca surowicy stanowi około 16% miedzi całkowitej.

4. Aktywność ceruloplazminy w surowicy wynosi średnio 109,8 jedn.  $\pm 22,1$ , a poziom miedzi pośredniej  $92,6 \mu\text{g}\% \pm 17,0$ . Pomiedzy aktywnością enzymu a stężeniem miedzi pośredniej zachodzi wysoka korelacja dodatnia.

### Piśmiennictwo:

1. Adams F. M., Haag J. R.: Jour. Nutr. 63, 585 (1957).
2. Beck A. B.: Austr. J. Zool. 4, 1 (1956).
3. Bosman M. S. M.: Jaarb. Inst. Onder. Landb. Wageningen 83 (1961).
4. Bradford Hill A.: Statystyka dla lekarzy. PWN Warszawa 1961.
5. Butler E. J.: Comp. Bioch. Physiol. 9, 1 (1963).
6. Gubler C. J., Lahey M. E., Cartwright G. E. and Wintrobe M. M.: J. Clin. Invest. 32, 405 (1953).
7. Gubler C. J., Lahey M. E., Askenbrucker H., Cartwright G. E., Wintrobe M. M.: J. Biol. Chem. 196, 209 (1952).
8. Hertz-Lukańska F., Kryński A., Nyrek S.: Roczn. Nauk Roln. (w druku, 1966).
9. Jamieson S. and Allcroft R.: Brit J. Nutr. 4, 16 (1950).
10. Long C.: Biochemists Handbook. E. F. N. Spon, London (1961).
11. Ravin H. A.: Lancet 270, 726 (1956).
12. Underwood E. J.: Trace Elements in Human and Animal Nutrition. Acad. Press N. Y. and London (1962).
13. Wojnar A. J.: Biologiczeskaja rol mikroelementow w organizmie žiwotnych i czeławieka. Wysszaja Szkoła Moškwa (1960).

Adres autora: Felicja Daszyńska, Warszawa, ul. Mokołowska 55 m. 23.

Дашыньска Ф., Крыньски А., Нырек С. — Церулоплазмин и медь в крови крупного рогатого скота.

В сыворотке 30 коров в возрасте 3,5—8 лет исследовали уровень общей меди, меди непосредственно реагирующей с ДДТС—Na и активности церулоплазмина. Кроме того исследовали концентрацию меди в плазме, в полной крови и в эритроцитах. Установили, что содержание общей меди в сыворотке крови равняется в среднем  $110,1 \mu\text{g}\% \pm 19,8$ ; сходные количества нашли при исследовании плазмы и полной крови. Медь непосредственно реагирующая составляла ок. 16%

общей меди сыворотки. Содержание меди в эритроцитах равнялось в среднем  $56,6 \mu\text{g}\% \pm 17,0$ . Установили тесную корреляцию между активностью церулоплазмина и уровнем посредственно определяемой меди в сыворотке.

Daszyńska F., Kryński A., Nyrek S. — Ceruloplasmin and copper in the blood of cattle.

The investigations concerned 30 cows aged 3,5 to 8 years. In serum, the level of total, and directly reacting with DDTC—Na copper, and the activity of ceruloplasmin were determined. In addition, the concentrations of copper in plasma, full blood, and corpuscles were also determined. It was found that the average content of total copper in serum was  $110,1 \mu\text{g}\% \pm 19,8$ , and similar values were obtained for plasma and full blood. Direct copper was about 16% of the total copper of the serum. The mean content of copper in cattle blood corpuscles was  $56,6 \mu\text{g}\% \pm 17,0$ .

A high positive correlation was observed between the activity of ceruloplasmin and the direct copper level in the serum.

Daszyńska F., Kryński A., Nyrek S. — La céruloplasmine et le cuivre dans le sang des bovins.

Les investigations furent effectuées sur 30 vaches ayant 3,5 à 8 ans. On détermina le niveau du cuivre total et réagissant directement avec le DDTC—Na dans le sérum ainsi que l'activité de la céruloplasmine. De plus on investiga la concentration du cuivre dans le plasma, le sang total et les globules sanguins. On constata que le contenu du cuivre total dans le sérum comporte en moyenne  $110,1 \mu\text{g}\% \pm 19,8$ , des valeurs similaires furent obtenues d'investigations du plasma et du sang total. Le cuivre direct constituait environ 16% du cuivre total du sérum. Le contenu de cuivre dans les globules sanguins des bovins comportait en moyenne  $56,6 \mu\text{g}\% \pm 17,0$ .

On constata une importante corrélation positive entre l'activité de la céruloplasmine et le niveau de cuivre indirect dans le sérum.

Daszyńska F., Kryński A., Nyrek S. — Ceruloplasmin und Kupfer im Rinderblut.

Die Untersuchungen betreffen 30 Kühe im Alter von 3,5 bis 8 Jahren. Im Blutsrum wurden Bestimmungen vom totalen Kupferspiegel und unmittelbar auf DDTC Na reagierendem Kupfer sowie die Aktivität von Ceruloplasmin durchgeführt. Ausserdem wurde die Kupferkonzentration im Plasma, vollem Blut und Blutkörperchen untersucht. Es ist dabei festgestellt worden, dass der Gehalt an totalem Kupfer im Serum durchschnittlich  $110,1 \mu\text{g}\% \pm 19,8$  ausmacht, ähnliche Werte wurden in den Untersuchungen vom Plasma und vollem Blut erreicht. Unmittelbares Kupfer macht ca 16% des totalen Kupfers im Serum aus. Kupfergehalt der Rinderblutkörperchen machte durchschnittlich  $56,6 \mu\text{g}\% \pm 17,0$  aus. Auch wurde eine grosse positive Korrelation zwischen der Aktivität von Ceruloplasmin und mittelbarem Kupferspiegel im Serum wahrgenommen.

KRAL H.: Masove występowanie stachybotriotokozy u bydła w Słowacji. (Hromadne mykotoxikozy u hospodarskych zvirat). Cesk. epid. mikr. immun. 4:72 (1965).

W latach 1960—64 wystąpiły w Słowacji masowe zachorowania bydła spowodowane obecnością w paszach grzyba *Stachybotrys alternans*. Na sekcji stwierdzono skazę krwotoczną, w narządach wewn. (wątroba, płuca, przewód pokarmowy) rozległe ogniska martwicze. Wyniki leczenia są problematyczne. Zapobieganie polega na prawidłowym zbiorze i przechowywaniu słomy. Grzyb *Stachybotrys alternans* jest patogenny dla ludzi.

Z. Z.