

ność mikotoksyn w ekstrakcie z badanej paszy, ale bez uzupełniających, specyficznych reakcji potwierdzających nie upoważnia do twierdzenia, iż pasza zawiera mikotoksyny.

Piśmiennictwo

1. Juskiewicz T., Piskorska-Pliszczyńska J.: *Medycyna Wet.* 32, 617, 1976.

2. Juskiewicz T., Piskorska-Pliszczyńska J.: *Medycyna Wet.* 33, 193, 1977.
 3. Juskiewicz T., Piskorska-Pliszczyńska J.: *Ann. Nutr. Alim.* 31, 189, 1977.
 4. Juskiewicz T., Piskorska-Pliszczyńska J.: *Bull. vet. Inst. Pulawy* 27, 72, 1984.
 5. Piskorska-Pliszczyńska J., Juskiewicz T.: *Arch. l'Institut Pasteur de Tunis* 54, 279, 1977.
 6. Piskorska-Pliszczyńska J., Żuk M.: *Medycyna Wet.* 35, 302, 1979.
 7. Stoloff L. i wsp.: *J. Ass. Off. Anal. Chem.* 54, 11, 1971.

Adres autora: prof. dr hab. Teodor Juskiewicz, ul. Kaniowczyków 6 m 3, 24-100 Puławy

JANUSZ ZIPSER, HENRYK KRACZKOWSKI

Zawartość kadmu, miedzi, cynku oraz metalotioneiny w nerkach i wątrobie koni i krów z różnych rejonów ziem wschodnich Polski

Zakład Biochemii Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Lubartowska 58, 20-123 Lublin

Summary

The content of Cd, Cu, Zn and metallothioneine in kidneys and livers of horses and cattle from different regions of the eastern part of Poland

The content of Cd, Cu, Zn and metallothioneine in the kidneys and livers of horses and cattle, coming from the Biała Podlaska, Chełm, Lublin and Zamość districts, was determined. The concentrations of the metals in the tissues were determined by absorptive atomic spectrophotometry (ASA). The content of metallothioneine (MT) in livers and kidneys was measured by the radiometric method introduced by Piotrowski. In the tissues under study the rate of Cd, Zn or Cu over quota was not discovered. An increased content of Cd was found only in the liver and kidneys of cattle from the Lublin territory.

Kadm należy do tych pierwiastków, które podlegają stałej kumulacji w tkankach zwierzęcych. Ruchliwość tego metalu w organizmach jest tak niewielka, że wyznaczone okresy biologicznego półtrwania przekraczają często czas życia osobników danego gatunku (16). Tak więc nawet w środowisku o słabym stopniu skażenia kadmem może wystąpić zatrucie, a jego rozpoznanie może być trudne z uwagi na brak swoistych objawów (10).

Kadm wykazuje zdolność włączania się do przemian metabolicznych innych pierwiastków niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania enzymów. Interferuje z takimi metalami jak: cynk, miedź, selen, żelazo oraz wapń (9, 12, 21), a zaburzając dodatkowo proces syntezy witaminy D₃ — zmniejsza stopień mineralizacji kości (1).

Ostre zatrucia kadmem występują rzadko i spowodowane są głównie drastycznym lekceważeniem przepisów BHP. Częściej natomiast pojawiają się schorzenia wywołane długotrwałym oddziaływaniem tego metalu na organizm. Następstwem chronicznego zatrucia kadmem są uszkodzenia nerek, wątroby, jąder, odwapnienia kości, niedokrwistość, chorobowe nadciśnienie oraz powikłania ciąży (26).

Miedź występuje we wszystkich tkankach organizmu, zwłaszcza dużo jest jej w wątrobie, nerkach oraz mięśniu sercowym (3). Istotną rolę miedzi wiąże się z jej udziałem w procesach redukcyjno-oksydacyjnych. Miedź jest integralnym składnikiem wielu oksydaz, w tym oksydazy cytochromowej końcowego enzymu łań-

cucha oddechowego. W komórkach zwierząt miedź koncentruje się głównie w mitochondriach oraz w jądrze komórkowym, gdzie może tworzyć trwałe połączenie z kwasem nukleinowym, wywołując zmiany w jego strukturze (2). Zapotrzebowanie na miedź jest zróżnicowane zarówno w zależności od samego gatunku zwierzęcia, jak i od jego stadium rozwojowego, a także od stężenia w diecie takich pierwiastków, jak: cynk, molibden i kadm (13). Niedobór miedzi powoduje niedokrwistość, zahamowanie wzrostu oraz zaburzenia rozwoju tkanki łącznej (8). Wiele gatunków wykazuje znaczną tolerancję na miedź, niemniej nadmiar jonów tego metalu w diecie może wywołać objawy zatrucia. Miedź nagromadzona w nadmiarze w wątrobie i nerkach zaburza prawidłowe funkcjonowanie tych narządów, a ponad fizjologiczne stężenia tego metalu w mięśniu sercowym doprowadzają do uszkodzeń naczyń wieńcowych (14).

Cynk występujący w organizmach wchodzi w skład wielu metaloenzymów: anhidrazy węglanowej, dehydrogenaz, proteaz, fosfataz (4, 20). Pobieranie cynku przez organizmy ssaków poddane jest regulacji, a więc stopień wchłonięcia tego pierwiastka w przewodzie pokarmowym nie jest wprost proporcjonalny do jego stężenia w żywności. Duże stężenie cynku w pożywieniu niszczy jednak ten biochemiczny układ kontrolny i cynk patologicznie odkłada się w narządach i tkankach (22). Uszkodzenia wywołane cynkiem dotyczą głównie wątroby, nerek oraz gruczołów płciowych (15). Cynk jest metalem o stosunkowo niskiej toksyczności, niemniej stężenia powyżej 100 ppm w paszy dają objawy chorobowe (25). Ostre zatrucie cynkiem wywołuje niedokrwistość i ogólne osłabienie (24). Następstwem zatrucia chronicznego jest drastyczne obniżenie poziomu miedzi w organizmie, a zatem obserwowane objawy chorobowe spowodowane są głównie deficytem miedzi w tkankach (5). Z obserwacji wynika, że dla prawidłowego funkcjonowania organizmu konieczne jest zachowanie właściwych proporcji pomiędzy stężeniami cynku i miedzi (23).

Kumulacja kadmu, cynku oraz miedzi w wątrobie i nerkach wywołana jest obecnością niskocząsteczkowego białka cytoplazmatycznego wiążącego te metale, a zwanego metalotioneiną (MT). Metalotioneina została odkryta w nerkach końskich w 1957 r. przez Margosha i Valle (13). Z dotychczasowych badań wynika, że białko to u ssaków posiada masę cząsteczkową ok.

6.000, a 30% jego aminokwasów stanowi cysteina, umożliwiającą wiązanie metalu, którego ilość może dochodzić do 10% masy całego metaloproteidu. Tak więc jeden mol metalotioneiny może związać siedem moli kadmu. Białko to występuje w wątrobie, nerce, śledzionie, jądrach, a także w ilościach śladowych we krwi. Induktorami metalotioneiny są kadm, cynk oraz miedź (6). Postuluje się, że w organizmie metalotioneina pełni następującą rolę: jest akceptorem metali w przewodzie pokarmowym, transportuje metale ciężkie w krwiobiegu, stanowi wewnątrzkomórkowe źródło cynku i miedzi, w zatruciu kadmem, rtęcią, ołowiem, a także i innymi metalami ciężkimi osłania enzymy komórkowe przed inaktywacją, wiążąc te toksyczne metale w nieaktywne kompleksy (6, 17).

Celem przeprowadzonych badań było określenie stężenia kadmu, miedzi i cynku oraz metalotioneiny w wątrobie i nerkach koni oraz krów na terenach wschodnich Polski.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w okresie trzech lat i objęto nimi rejon województwa lubelskiego, zamojskiego, chełmskiego oraz białsko-podlaskiego. Materiał do oznaczeń uzyskiwano z rzeźni miasta Lublina oraz z rzeźni w Parczewie. Do analiz pobrano nerki i wątroby od 290 koni oraz 180 krów, jednocześnie ustalając miejsce pochodzenia zwierzęcia.

Oznaczono poziom kadmu metodą absorpcyjnej spektrofotometrii atomowej (ASA), mineralizując uprzednio próbki mieszaniną kwasu azotowego i nadchlorowowego (19), a po rozcieńczeniu do objętości 50 ml ekstrahowano uwolniony metal do fazy organicznej złożonej z ketonu izobutylo-wo-metylowego. Pomiaru stężenia kadmu dokonywano z fazy organicznej spektrofotometrem f-my Pye Unicam, model SP-9. Wartości stężeń cynku oraz miedzi uzyskiwano analogiczną techniką, jaką stosowano do oznaczeń kadmu z tą różnicą, że pomijano ekstrakcję metali fazą organiczną z uwagi na wyższe stężenie tych pierwiastków w materiale biologicznym (28). Ilość metalotioneiny w nerkach i wątrobie oznaczono radiometryczną metodą Piotrowskiego (27). Homogenaty tkanek wysycano izotopem ^{230}Hg , a po inkubacji usuwano zarówno nie związane z białkami izotop rtęci, jak i białka nie będącego metalotioneina. Pomiaru radioaktywnej frakcji, traktowanej jako metalotioneina, dokonywano typowym licznikiem scyntylacyjnym zliczając impulsy z badanych próbek oraz próbek zawierających wprowadzony dodatkowo wewnętrzny wzorzec metalotioneiny jako punkt odniesienia.

Wyniki i omówienie

Średnie stężenie kadmu, miedzi, cynku oraz metalotioneiny w tkankach zwierząt przedstawia tab. 1. Stężenia cynku, miedzi oraz kadmu w wątrobach i nerkach krów nie były wysokie i nie odbiegały od poziomu stwierdzanego przez innych autorów dla terenów rolniczych (7, 11, 29). Stężenia cynku oraz miedzi w wątrobach i nerkach koni również nie budzą zastrzeżeń toksykologicznych i nie odbiegają od wartości uzyskiwanych przez innych badaczy (29).

Stężenia kadmu w wątrobach koni były około 60 razy

wyższe, niż w wątrobach krów, zaś w nerkach koni od 100 do 150 razy wyższe, niż w nerkach krów. Wysokie wartości stężeń kadmu w tkankach koni zostały zauważone w 1957 r. i doprowadziły do odkrycia metalotioneiny — białka wiążącego ten pierwiastek (13). Pomimo intensywnych badań nie wiadomo dlaczego wątroby i nerki koni gromadzą tak znaczne ilości tego toksycznego pierwiastka, ale ta własność predysponuje konie jako zwierzęta wskaźnikowe przy ocenie skażenia kadmem środowiska. Z uwagi na to iż oznaczane pierwiastki, a zwłaszcza kadm, stanowią potencjalne zagrożenie dla zdrowia ludzi, pobierając narządy ustalono miejsce pochodzenia badanych zwierząt w celu wykrycia terenów, na których byłoby zawierano w swoich tkankach podwyższone poziomy metali toksycznych. Wyniki oznaczeń dla kadmu podano w tab. 2 i 3.

W okresie trzech lat w tkankach u koni i krów rejonu wschodniej Polski nie wykryto stężeń kadmu przekraczających obowiązujące normy. Uzyskane wyniki wskazują na istnienie okręgów, gdzie w narządach byłaby stwierdzono około dwukrotnie mniej kadmu, niż przewiduje średnia dla całego badanego terenu. Są to rejony wokół Tomaszowa Lubelskiego oraz okolice Włodawy. Niepokojącym jest fakt istnienia podwyższonego stężenia kadmu w wątrobach i nerkach krów pochodzących z okolic Lublina. Stężenia te są ponad dwukrotnie wyższe od wyznaczonej średniej dla regionu objętego badaniami. W przypadku koni mimo, iż stężenia kadmu w wątrobach i nerkach są kilkudziesięciokrotnie wyższe, niż u krów, różnice między okręgami nie są wyraźnie zaznaczone. Nie stwierdzono istnienia obszarów, w których cynk oraz miedź występowałyby w tkankach zwierząt w ilościach odbiegających wyraźnie od wyznaczonej średniej. Stężenie kadmu w tkankach było skorelowane ze stężeniami metalotioneiny. Dla koni 1 ppm kadmu w wątrobie odpowiadał około 0,08 mg metalotioneiny na gram tkanki, zaś w nerkach 1 ppm kadmu odpowiadał około 0,045 mg metalotioneiny na gram tkanki. Analogicznie u krów 1 ppm kadmu w wątrobie odpowiadał 0,9 mg metalotioneiny na gram tkanki, a 1 ppm kadmu w nerkach — 0,8 mg metalotioneiny na gram tkanki.

Znaczne różnice między stężeniami kadmu a odpowiadającymi im poziomami metalotioneiny zarówno w tkankach (wątroby i nerki), jak i między samymi zwierzętami (koń, krowa), spowodowane są prawdopodobnie stopniem wysycenia metalotioneiny kadmem. Stężenie metalotioneiny w wątrobach koni były średnio pięć razy, a w nerkach dziewięć razy wyższe, niż w odpowiadających narządach krów.

Wnioski

1. Stężenie kadmu, miedzi i cynku w tkankach zwierząt pochodzących ze wschodnich terenów Polski nie przekracza obowiązujących norm.

2. W skażeniach kadmem za zwierzę wskaźnikowe

Tab. 1. Średnie stężenia kadmu, miedzi, cynku oraz metalotioneiny w tkankach zwierząt

Badany narząd	n	Cynk p.p.m.		Miedź p.p.m.		Kadm p.p.m.		M.T. mg/g	
		$\bar{x} \pm s$	W %	$\bar{x} \pm s$	W %	$\bar{x} \pm s$	W %	$\bar{x} \pm s$	W %
Wątroba krów	190	58 ± 13,6	152%	20 ± 4	136%	0,18 ± 0,02	75%	0,14 ± 0,08	71%
Wątroba koni	280	82 ± 15,6	161%	15 ± 2,4	142%	9,1 ± 0,4	24%	0,75 ± 0,28	53%
Nerki krów	180	32 ± 6,8	135%	6 ± 1,6	155%	0,23 ± 0,02	65%	0,2 ± 0,02	50%
Nerki koni	290	61 ± 12,7	176%	11 ± 2	152%	38 ± 12	24%	1,8 ± 0,6	50%

Objaśnienie: W % — procentowy współczynnik zmienności.

Tab. 2. Średnie stężenia kadmu w wątrobach (W) i nerkach (N) koni

Rejon	Liczba koni	Cd p.p.m.		Rejon	Liczba koni	Cd p.p.m.	
		W	N			W	N
Bełżyce	10	9,9	39,2	Łuków	10	9,5	38,0
Biała				Opole			
Podlaska	10	8,5	39,0	Lubelskie	10	8,8	36,8
Biłgoraj	10	8,4	38,8	Parczew	10	8,4	38,4
Bychawa	10	9,0	37,7	Puławy	20	10,9	42,1
Chełm	20	9,7	39,2	Radzyń P.	10	7,9	35,3
Janów				Rejowiec	10	8,9	38,2
Lubelski	10	8,1	38,5	Ryki	19	10,1	41,0
Krasnystaw	10	9,9	41,3	Siedlce	10	9,4	39,7
Kraśnik	20	10,2	40,8	Tomaszów			
Lipsko	8	7,9	36,9	Lubelski	10	7,0	24,5
Lubaczów	10	7,9	37,6	Włodawa	10	6,8	22,2
Lubartów	10	9,3	39,5	Okolice			
Łęczna	20	9,8	42,8	Lublina	25	12,2	45,3
Łosice	7	8,0	35,1				

Tab. 3. Średnie stężenia kadmu w wątrobach (W) i nerkach (N) krów

Rejon	Liczba krów	Cd p.p.m.		Rejon	Liczba krów	Cd p.p.m.	
		W	N			W	N
Bełżyce	10	0,10	0,12	Łuków	—	—	—
Biała				Opole			
Podlaska	5	0,15	0,26	Lubelskie	10	0,09	0,18
Biłgoraj	5	0,12	0,20	Parczew	8	0,08	0,12
Bychawa	8	0,12	0,28	Puławy	12	0,28	0,39
Chełm	—	—	—	Radzyń			
Janów				Podlaski	5	0,09	0,15
Lubelski	10	0,10	0,22	Rejowiec	6	0,15	0,20
Krasnystaw	10	0,25	0,24	Ryki	3	0,18	0,28
Kraśnik	10	0,22	0,26	Siedlce	6	0,21	0,27
Lipsko	—	—	—	Tomaszów			
Lubaczów	—	—	—	Lubelski	5	0,08	0,09
Lubartów	12	0,18	0,20	Włodawa	10	0,07	0,09
Łęczna	15	0,12	0,24	Okolice			
Łosice	—	—	—	Lublina	30	0,40	0,51

zwierzęciem wskaźnikowym może być bydło, ze względu na łatwość pozyskiwania tkanek krów w rzeźniach i ubojniach przy badaniach toksykologiczno-środowiskowych.

4. Wątroby i nerki krów hodowanych wokół Lublina zawierają dwukrotnie wyższe stężenie kadmu, niż wyznaczona średnia dla całego regionu.

5. Najniższe poziomy kadmu występują w tkankach koni i krów pochodzących z gospodarstw położonych wokół Włodawy i Tomaszowa Lubelskiego.

Piśmiennictwo

1. Ammerman C. D., Fick K. P., Hansard S. L., Miller S. M.: Toxicity of certain minerals to domestic animals. Univ. Florida, Gainesville, 1973, s. 36.
2. Berger N. A., Eichorn G. L.: J. Am. Chem. Soc. 93, 7062, 1971.
3. Bernstein D. M., Kreip T. J., Klejman M. T.: Trace Subst. Env. Health. 8, 323, 1974.
4. Bowen H.: Trace elements in biochemistry. Academic Press, London 1966, s. 741.
5. Cox D. H., Harris D. L.: J. Nutrit. 70, 314, 1960.
6. Dunn M., Bialock L., Cousins R.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 185, 107, 1987.
7. Falandysz J., Lorenc-Biała H.: Bromat. 19, 17, 1986.
8. Freden E.: Adv. Exp. Med. 58, 1, 1974.
9. Hamilton D. L., Valberg L. S.: Am. J. Physiol. 227, 1033, 1974.
10. Harrop-Griffiths H.: Trace Subst. Env. Health. 3, 71, 1975.
11. Kleczkowski M.: Pol. Arch. Wet. 37, 35, 1987.
12. Magos L., Webb M.: Arch. Toxicol. 36, 63, 1976.
13. Margoshes M., Valle B. L.: J. Am. Chem. Soc. 79, 4813, 1957.
14. Masironi J. H., Miesch A. T., Crawford M. D., Hamilton H. J.: Bull. WHO 47, 139, 1972.
15. Noël-Lambot, Gerday C., Disteché A.: Comp. Biochem. Physiol. 61C, 177, 1978.
16. Nordberg G. F.: Env. Physiol. Biochem. 1, 7, 1972.
17. Nordberg M.: Ethnic Differences in Reaction to Drugs and Xenobiotics. Alan R. Liss. Inc. Stockholm. 1986, s. 201.
18. Piekacz H.: Z. Probl. Post. Roln. 179, 585, 1976.
19. Pinta M.: Absorpcyjna spektrometria atomowa-zastosowanie w analizie chemicznej. PWN Warszawa, 1977, s. 440.
20. Riordan J. F., Vallee B. L.: Adv. Exp. Med. Biol. 48, 33, 1974.
21. Ryumon Honda, Koji Nogawa: Arch. Toxicol. 59, 437, 1987.
22. Suso F. A., Edwards H. M.: Nature. 235, 330, 1970.
23. Van Campen D. R.: Trace Elements Metabolism in Animals. Academic press, Edinburgh 1970, s. 287.
24. Van Reen R.: Arch. Biochem. 45, 337, 1953.
25. Van Ulsen F.: Tijdschr. Diergeesk. 97, 735, 1972.
26. Webb M.: The Chemistry, Biochemistry and Biology of Cadmium. Elsevier North Holland Biomedical Press. 1979, s. 341.
27. Zelazowski A., Piotrowski J.: Acta Biochim. Pol. 24, 97, 1977.
28. Zmudzki J.: Medycyna Wet. 33, 179, 1977.
29. Zmudzki J.: Mat. I Krajowej Konferencji. Wpływ zanieczyszczenia pierwiastkami śladowymi na przyrodnicze warunki rolnictwa, Puławy 1987, s. 49.

Adres autora: dr Janusz Zipser, ul. Braci Wiantawskich 1 m. 17, 20-844 Lublin

należy uznać konia, u którego w nerkach występują stężenia kadmu o dwa rzędy wielkości większe, niż u bydła.

3. Dla terenów, gdzie stopień skażenia jest niewielki

HANKES G. H., DILLON A. R., RAVIS W. R.: Wpływ roztworu Ringera z mleczanem i bursztynianu sodowego prednizolonu u psów z indukowanym szokiem pokrwotocznym. (Effects of lactated Ringer solution and prednisolone sodium succinate on dogs with induced haemorrhagic shock). Am. J. Vet. Res. 53, 26—33, 1992 (1)

Shok pokrwotoczny indukowano u psów o masie 15—20 kg pobawiając je 41% (18,6 ml/kg) krwi tętniczej w czasie 15 minut. Po 30 minutach część psów otrzymała płyn Ringera z mleczanem (LRS) w ilości 88 ml/kg masy ciała, dożylnie, a część psów otrzymała oprócz LRS bursztynian sodowy prednizolonu, dożylnie w dawce 11 mg/kg. LRS podawano przez 15 minut, a glukokortykoid podano po iniekcji 500 ml LRS. LRS poprawił wyraźnie zaburzenia hemodynamiczne i metaboliczne, które pojawiły się w następstwie utraty dużych ilości krwi w krótkim okresie czasu. W okresie 2,5 godz. od chwili rozpoczęcia leczenia średnie ciśnienie tętnicze, indeks serca, oporność naczyń, tętno, oddechy, poziom mleczanu i glukozy we krwi, parametry gazowe krwi żyłnej i tętniczej wyraźnie poprawiły się. Zastosowanie bursztynianu sodowego prednizolonu zwiększyło efektywność LRS tylko u niektórych psów. Jedynym trendem była poprawa odczynu krwi, A-VpH i P_{CO2}.

THORNS C. J., BELL M. M., CHASEY D., CHESHAM J., ROEDER P. L.: Metoda ELISA z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych do jednoczesnego wykrywania koronawirusa bydła, rotawirusa z grupy serologicznej A i antygeny Escherichia coli K99 w kale cieląt. (Development of monoclonal antibody ELISA for simultaneous detection of bovine coronavirus, rotavirus group A, and Escherichia coli K99 antigen in feces of calves). Am. J. Vet. Res. 53, 36—43, 1992 (1)

Biegunki nowo narodzonych cieląt są przyczyną znacznych strat ekonomicznych, ponieważ powodują padnięcia, leczenie jest kosztowne, a ozdrowieńcy nie osiągają zamierzonych przyrostów wagowych. W USA biegunki zakaźne stanowią około 40% wszystkich chorób zakaźnych cieląt w wieku do 60 dni. Etiologia choroby jest złożona. Ważną rolę odgrywa rotawirus (RV), koronawirus bydła (BCV), enterotoksyczna E. coli K99. Opracowano szybką metodę ELISA do wykrywania w kale cieląt wszystkich tych czynników etiologicznych biegunki. W odczynie ELISA zastosowano mieszaninę przeciwciał monoklonalnych. Wszystkie komponenty cechowała duża specyficzność i czułość w odczynie ELISA. Wynosiła ona dla BCV-77%, K99-93% i dla RV-100%. Najwyższe stężenia badanych antygenów występowały w kale chorych cieląt w ostrej fazie choroby.