

CZESŁAW KASZUBKIEWICZ, JANUSZ A. MADEJ, KRZYSZTOF A. SOBIECH *

Zachowanie się wybranych wskaźników biochemicznych i metali ciężkich (Zn, Cd i Pb) w stanach hipokupremii u jagniąt

Katedra Anatomii Patologicznej i Medycyny Sądowej oraz Katedra Biochemii *
Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. C. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Niedobór miedzi u jagniąt, przebiegający z objawami niezborności ruchów i określany nazwą swayback, opisano w wielu krajach. W Polsce schorzenie to zostało stwierdzone w 1975 r. przez Kaszubkiewicza i Madeja (7). Hipokupremia u jagniąt może mieć pierwotny charakter, tj. wtedy, gdy zawartość miedzi w karmie spada poniżej 5 mg/kg suchej masy (13), lub wtórny, gdy w karmie występuje nadmiar molibdenu (2, 3) lub siarczynu żelaza (1), które są antagonistami miedzi.

Swayback, czyli enzoptyczna ataksja jagniąt (*ataxia enzootica*) charakteryzuje się w obrazie morfologicznym wyraźną utratą i demielinizacją istoty białej mózgu oraz wtórnym wodogłowiem. Zmianom tym towarzyszy silna proliferacja mikrogleju i wyraźna aktywność komórek żernych, wyrażająca się wysoką aktywnością fosfatazy kwaśnej (7). Ponadto dochodzi do uszkodzenia naczyń krwionośnych w sąsiedztwie ognisk demielinizacji w postaci zastoju krwi i wycieczek, a w ścianach naczyń żylnych do wyraźnego wzrostu aktywności fosfatazy zasadowej i adenozyntroójfosfatazy (7).

Mimo dokładnego poznania patomorfologii enzoptycznej niezborności jagniąt, mechanizm powstawania zaburzeń biochemicznych i zmian neuropatologicznych przy hipokupremii wymaga dalszych badań. Celem niniejszej pracy było określenie wpływu pierwotnej hipokupremii na zachowanie się wybranych wskaźników biochemicznych i metali ciężkich (Zn, Cd i Pb) w tkankach i surowicy krwi.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły chore oraz padłe jagnięta rasy merynos, w wieku 1,5 do 2 miesięcy, pochodzące z woj. wałbrzyskiego. U chorych zwierząt dokonywano obserwacji klinicznych, a następnie zgła-

dzono je przez skrawanie. Bezpośrednio po zabiciu zwierząt wykonywano sekcję i pobierano materiał (mózgowie) do badań histopatologicznych, biochemicznych i chemicznych. Poziom Cu, Zn, Cd i Pb w homogenatach mózgowia, wątroby, nerek oraz pełnej krwi oznaczano metodą polarograficzną. W homogenacie z mózgowia i surowicy jagniąt oznaczono aktywność enzymów, tj. gamma-glutamylotransferazy (GGT) — EC. 2.3.2.2 (10, 11), acylazy aktywowanej przez kobalt (AA-Co) — EC. 2.4.5.1, leucyloaminopeptydazy (LAP) — EC. 3.4.1.1 (5) oraz alanyloaminopeptydazy (AAP) — EC. 3.4.1.2 (5). W surowicy krwi oznaczono aktywność ceruloplazminy (CP) — EC. 1.10.3.2 (10), poziom białka, ogólną ilość gammaglobulin oraz globulin klasy IgG₁, IgG₂ i IgM metodą dyfuzji radialnej (5).

Dane dotyczące zawartości miedzi w glebie uzyskano ze Stacji Chemiczno-Rolniczej we Wrocławiu.

Wyniki i omówienie

Wyniki obserwacji klinicznych oraz badań anatomo-patologicznych były identyczne jak we wcześniejszych obserwacjach własnych (7) i upoważniały do rozpoznania u jagniąt niedoboru miedzi. Matki chorych zwierząt nie wykazywały zmian chorobowych. W wątrobie, nerkach oraz mózgowiu jagniąt chorych obserwowano, w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi (zdrowymi), wyraźny spadek zawartości miedzi, natomiast poziom tego pierwiastka w pełnej krwi był prawidłowy (tab. 1). Hipokupremii narządowej towarzyszył wyraźny wzrost ilości ołowiu, kadmu i cynku we wszystkich badanych narządach, a także we krwi.

U zwierząt z niedoborem miedzi stwierdzono wyraźny spadek, w porównaniu z jagniętami zdrowymi, aktywności badanych enzymów, tj. GGT, AA-Co, LAP i AAP i to zarówno w surowicy, jak i homogenatach z mózgowia (tab. 2), któremu towarzyszyło zwiększenie ilości hipoproteinemii i hipogammaglobulinemii oraz wyraźne obniżenie się ilości immunoglobulin klasy IgM i IgG₂, w mniejszym stopniu IgG₁.

Tab. 1. Zawartość Cu, Pb, Cd i Zn w narządach oraz krwi jagniąt w mg/l ($\bar{x} \pm s$)

Narządy	Zwierzęta chore (hipokupremia)				Zwierzęta zdrowe			
	Cu	Pb	Cd	Zn	Cu	Pb	Cd	Zn
Wątroba	18,547* ±1,2	0,980* ±0,01	0,098* ±0,00	95,890* ±5,2	250,0 ±12,7	0,180 ±0,01	0,002 ±0,0	61,098 ±8,2
Mózgowie	9,982* ±0,9	0,656* ±0,02	0	5,382* ±0,4	14,1 ±0,4	0,095 ±0,00	0	3,822 ±0,2
Nerki	11,013 ±0,8	0,803* ±0,03	0,214* ±0,01	48,0* ±2,7	13,5 ±0,9	0,280 ±0,01	0,005 ±0,0	37,0 ±0,9
Krew pełna	1,079 ±0,05	0,226* ±0,00	0	2,099* ±0,3	1,02 ±0,1	0,041 ±0,00	0	1,200 ±0,1

Objaśnienie: * — różnica statystycznie istotna.

Tab. 2. Aktywność enzymów w surowicy i mózgowiu jagniąt ($\bar{x} \pm S$)

Enzym	Zwierzęta chore (hipokupremia)		Zwierzęta zdrowe	
	surowica mJ/cm ³	mózgowie mJ/mg białka	surowica mJ/cm ³	mózgowie mJ/mg białka
Gamma-glutamylotransferaza (GGT)	10,92* ± 2,27	4,76 ± 1,38	16,32 ± 2,61	4,63 ± 1,12
Acyłaza aktywowana przez kobalt (AA-Co)	0,88* ± 0,26	8,21* ± 3,21	1,28 ± 0,21	11,62 ± 2,42
Leucyloaminopeptydaza (LAP)	29,37** ± 7,15	14,10 ± 3,74	47,21 ± 6,35	17,85 ± 2,56
Alanyloaminopeptydaza (AAP)	34,16 ± 9,36	53,17 ± 16,43	59,32 ± 10,55	74,21 ± 18,64
Ceruloplazmina ^a	16,38* ± 4,62	**	14,63 ± 3,21	**

Objaśnienia: * — różnica statystycznie istotna, ** — fizjologicznie nie występuje, a — wyrażona w mg na 100 cm³ surowicy.

(tab. 3). Jednocześnie u jagniąt z niedoborem miedzi stwierdzono wyraźny wzrost poziomu ceruloplazminy w surowicy krwi, w porównaniu z zwierzętami zdrowymi (tab. 2).

Wyniki badań chemicznych gleby wykazały niższą zawartość miedzi (średnio 3,8 mg/l próbki gleby w badanym obiekcie gospodarczym, aniżeli w pobliskich rejonach (średnia 8,2—9,0 mg/l próbki gleby).

Mechanizm zmian neuropatologicznych u jagniąt z niedoborem miedzi należy wiązać, zdaniem Gallaghery (4), ze spadkiem aktywności oksydazy cytochromowej C, zmniejszeniem syntezy endogenego ATP i następowym zablokowaniu biosyntezy fosfolipidów w mózgu, co prowadzi z kolei do zahamowania produkcji mielin. Podobny pogląd reprezentowali Howell i wsp. (6). Natomiast Behrens i Schultz (1) uważają demielinizację za zjawisko wtórne uwarunkowane zastojem krwi, prowadzącym do tzw. „martwicy obrzękowej”. Ulegają jej najpierw osłonki rdzenne i włókna osiowe, a następnie także rusztowanie ekto- i mezodermalne, co w końcu prowadzi do rozplynięcia się tkanki nerwowej.

Z przeprowadzonych badań własnych wynika, że hipokupremii u jagniąt towarzyszy wyraźne zaburzenie dynamicznej równowagi, jaka istnieje w organizmie między metalami ciężkimi. Wraz ze spadkiem poziomu miedzi stwierdzono w narządach i pełnej krwi znaczny wzrost ilości cynku, kadmu i ołowiu. Fakt ten dowodzi, że w warunkach pierwotnej hipokupremii, uwarunkowanej niskim poziomem miedzi w glebie dochodzi do zaburzeń w naturalnym antagonizmie między miedzią a pozostałymi metalami ciężkimi, a także między cynkiem a kadmem.

Analiza zawartości metali ciężkich w narządach i krwi chorych jagniąt pozwala przypuszczać, że w powstawaniu zmian neuropatologicznych przy hipokupremii współdziała w jakimś stopniu neurotoksyczne działanie ołowiu i kadmu, których punktem uchwytu są grupy sulfhydrylowe (SH) enzymów, biorących udział w przemianie tłuszczowej i węglowodanowej. Morfologicznym wykładnikiem zaburzeń enzymatycznych, wynikających z ich blokady są takie zmiany, jak: obrzęk i demielinizacja war-

Tab. 3. Poziom białka, gamma-globulin i niektórych ich frakcji w surowicy jagniąt w mg/cm³ ($\bar{x} \pm S$)

Grupa zwierząt	Białko	Gamma-globuliny	IgG ₁	IgG ₂	IgM
Zwierzęta chore (hipokupremia)	42,2* ± 5,1	14,0 ± 1,2	6,3 ± 0,9	2,2* ± 0,1	1,0* ± 0,0
Zwierzęta zdrowe	55,1 ± 6,2	15,4 ± 1,1	6,7 ± 1,0	3,0 ± 0,4	1,9 ± 0,1

Objaśnienie: * — różnica statystycznie istotna.

stwy rdzennej, ogniska rozmiękania tkanki nerwowej oraz wylewy krwi. Zmiany te z pewnością modyfikują obraz uszkodzenia mózgowia spowodowany pierwotnym niedoborem miedzi.

W mózgowiu, a także w surowicy krwi jagniąt z hipokupremią stwierdzono wyraźne obniżenie się, w porównaniu z kontrolą, aktywności peptadaz, tj. aminopeptydazy leucynowej, będącej metaloenzymem posiadającym jony Zn²⁺ w centrum katalitycznym, acylazy aktywowanej przez kobalt, gamma-glutamylotransferazy aktywowanej przez jony Mg²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ i Fe³⁺ oraz alanyloaminopeptydazy. Obserwowane wyraźne obniżenie się aktywności ww. enzymów świadczy o głębokich zaburzeniach metabolicznych u jagniąt z hipokupremią.

Ciekawym zjawiskiem u badanych jagniąt był wyraźny wzrost, w porównaniu z zwierzętami zdrowymi, aktywności w surowicy ceruloplazminy, przy jednoczesnym braku zmian w poziomie miedzi w pełnej krwi. Rola ceruloplazminy w gospodarce miedzią jest szczególna. Enzym ten bierze udział w transporcie miedzi, utlenianiu Fe²⁺ do Fe³⁺ w osoczu — co umożliwia wbudowywanie żelaza w transferynę, a także we wbudowywaniu jonów Cu²⁺ w cząsteczkę oksydazy cytochromowej (8, 9). Poziom oksydazy cytochromowej jest proporcjonalny do zawartości tego enzymu w osoczu (8). Fakt ten znajduje potwierdzenie w badaniach własnych, w których stwierdzono wyraźny wzrost aktywności ceruloplazminy, a więc tym samym poziomu oksydazy cytochromowej. Uzyskane wyniki nie potwierdzają obserwacji Gallaghery (4), który jak już wspomniano, stwierdził przy hipokupremii u jagniąt spadek aktywności tego enzymu.

Działanie enzymatyczne ceruloplazminy jest silnie hamowane przez wysokie stężenie takich metali, jak: cynk, żelazo, nikiel i kobalt (8). W naszych badaniach wykazano, że mimo wysokiej zawartości cynku w narządach i pełnej krwi u jagniąt z hipokupremią doszło do wzrostu aktywności ceruloplazminy. Także godnym uwagi wydaje się być fakt wysokiej zawartości ceruloplazminy w surowicy, co prawdopodobnie stanowiło zabezpieczenie krwi przed obniżeniem się w niej poziomu miedzi, nawet kosztem narządów mięsnych. Zjawisko to świadczy o dużej mobilności tego pierwiastka w ustroju jagniąt z pierwotną hipokupremią.

Hipokupremii u jagniąt towarzyszyła hipoproteinemia oraz wyraźna hipogammaglobulinemia, co świadczy o tym, że niedobór miedzi

działa hamująco na kształtowanie się odporności typu humorajnego.

Piśmiennictwo

- Behrens H., Schulz C.: Dt. tierärztl. Wschr. 502, 66, 1959.
- Cunningham J. J.: N. Z. J. Agric. 5, 9, 1957.
- Dick A. T., Bull L. A.: Aust. vet. J. 21, 70, 1945.
- Gallagher C. H.: Aust. vet. J. 33, 311, 1957.
- Himmeloeh S. R.: Archs Biochem. Biophys. 134, 597, 1969.
- Howell J., Mc Davson A. N., Oxberry J.: Res. vet. Sci. 5, 310, 1964.
- Kaszubkiewicz C., Madej J. A.: Medycyna Wet. 31, 558, 1955.
- Mondorf W., Mackenrodt G., Halberstadt E.: Klin. Wschr. 49, 61, 1979.
- Osaki S., Mc Dernatt J. A., Frieden E. J.: J. biol. Chem. 239, 364, 1964.
- Richter R.: Arch. Immun. Ther. 19, 389, 1971.
- Sobiech K. A., Ziomek E., Szewczuk A.: Arch. Immun. Ther. 22, 645, 1974.
- Szewczuk A.: Arch. Immun. Ther. 17, 476, 1968.
- Unterwood E. J.: Trace elements in human and animal nutrition. Academic Press, New York, 1956.

Adres autora: dr hab. Janusz A. Madej, ul. Liskego 4/5, 50-345 Wrocław

Каушбкевич Ч., Мадей Я. А., Собех К. А. — Уровни избранных биохимических показателей и тяжелых металлов (Zn, Cd и Pb) в состояниях гипокупремии у ягнят

У ягнят с симптомами гипокупремии выполнили гистопатологические исследования головного мозга, определения уровня Cu, Zn, Cd и Pb в гомогенатах органов и цельной крови полярографическим методом, определения активности энзимов, т.е. гамма-глутамилтрансферазы (GGT), ацилазы, активированной кобальтом (AA-Co), лейциламинопептидазы (LAP), аланиламинопептидазы (AAP) и перулоплазмина (CP) в мозгу и сыворотке крови, а также определяли уровень белка, гамма-глобулинов и некоторых их фракций в сыворотке. Обнаружено, что гипокупремии у ягнят сопутствует рост в органах и в крови количества Zn, Cd и Pb. Этот факт свидетельствует о нарушениях в нату-

ральном антагонизме между Cu а Zn и Cd. Возникновению нейрпатологических изменений у ягнят содействуют свинец и кадмий. Наблюдаемое понижение активности исследуемых энзимов свидетельствует о глубоких метаболических нарушениях у этих животных. Рост уровня церулоплазмина свидетельствует о предохранении крови от понижения в ней уровня Cu даже за счет паренхиматозных органов. Гипокупремии сопутствовали гипотеинемия и гамма-гипоглобулинемия, что свидетельствует о том, что дефицит меди действует тормозяще на формирование устойчивости гуморального типа.

Kaszubkiewicz C., Madej J. A., Sobiech K. A. — **Chosen biochemical indices and heavy metals (Zn, Cd and Pb) in hypocupraemic lambs**

In hypocupraemic lambs histopathological examination of the brain were performed, the level of Cu, Zn, Cd and Pb in organs homogenates was polarographically estimated, the activity of gammaglutamyltransferase (GGT), acylase activated by Cobalt (AA-Co), leucylaminopeptidase (LAP), alanylaminopeptidase (AAP) and ceruloplasmin (CP) in the brain and blood serum was determined. Moreover, the level of protein, gamma-globulin and its fractions was determined in blood sera. It was found that in hypocupraemic lambs increases both in tissues and in blood the content of Zn, Cd and Pb. This fact reveals the disturbances in an natural antagonism between Cu, and Zn and Pb. In the development of neuropathological lesions cooperate Zn and Cd. The observed decreased in the activity of the examined enzymes points to the profound metabolic disturbances in hypocupraemic lambs. The increase of the level of CP points to a protection of blood against a decrease of Cu level in blood, even due to decrease of Cu in parenchymatous organs. Hypocupraemia accompanied hypoproteinaemia and gamma-globulinaemia, pointing to the fact that Cu deficiency inhibits humoral immunity of an organism.

FRANK G. H., SMITH P. C.: **Częstotliwość występowania Pasteurella haemolytica u transportowanych cieląt. (Prevalence of Pasteurella haemolytica in transported calves).** Am. J. vet. Res. 44, 981—985, 1983 (6).

W okresie 2 lat określono na podstawie posiewów z wymazów z jamy nosowej częstotliwość występowania Pasteurella haemolytica u cieląt z gospodarstw indywidualnych w oborze, na targowisku i po transporcie na odległość 1600 km. Oznaczono przy tym przynależność serotypową wyosobnionych szczepów i wysokość miana swoistych przeciwciał w surowicy cieląt, aktywnych w odczynie IAH. P. haemolytica izolowano od niewielkiego odsetka cieląt przebywających w gospodarstwach, znacznie wyższy odsetek cieląt zakażonych stwierdzono na targowisku, a także po transporcie. Wśród szczepów P. haemolytica izolowanych w gospodarstwach dominował serotyp 2. Serotyp 1 dominował wśród szczepów P. haemolytica izolowanych z płuc cieląt padłych na ostre zapalenie układu oddechowego.

G.

ROSS R. F., HARMON R. L., ZIMMERMANN B. J., YOUNG T. F.: **Wrażliwość macior na doświadczalne zapalenie gruczołu mlekowego na tle zakażenia Escherichia coli. (Susceptibility of sows to experimentally induced Escherichia coli mastitis).** Am. J. vet. Res. 44, 949—954, 1983 (6).

Celem badań było porównanie wrażliwości macior z dwóch stad (R i S) na zapalenie gruczołu mlekowego na tle zakażenia Escherichia coli. Po 4 maciory z każdego stada zakażono do gruczołu mlekowego w

8 godzinie po wyproszeniu 10^4 i 10^7 cfu E. coli 06:K23:H1. U macior ze stada S w porównaniu do macior ze stada R wzrastała temperatura ciała, spadała liczba krwinek białych i stosunek plazmy do fibrynogenu. W okresie 14 dni po zakażeniu padło 83% prosiąt. Wysokość miana swoistych przeciwciał aktywnych w odczynie wiązania dopełniacza, aglutynacji i w odczynie ELISA w surowicy macior ze stada R i S pokrywała się. Natomiast poziom laktoferyny był statystycznie znamienne wyższy u macior w stadzie S, 2 i 3 dnia po porodzie.

G.

SCHULTZ R. A., ROSS R. F.: **Wrażliwość na antybiotyki i sulfonamidy 50 szczepów Haemophilus pleuropneumoniae. (Antibiotic and sulfamide sensitivity of 50 Haemophilus pleuropneumoniae isolates).** Vet. Med. small. anim. clin. 78, 603—605, 1983 (4).

Określono wrażliwość 50 szczepów Haemophilus pleuropneumoniae izolowanych z płuc chorych na zapalenie płuc świń na 11 czynników przeciwbakteryjnych. Wrażliwość określano metodą krążkową na podłożu Mueller Hinton (sulfonamidy) i Casmana (antybiotyki). Badania wykazały, że 40 szczepów H. pleuropneumoniae było wrażliwych na penicylinę, 49 na chloromycetynę, 1 na erytromycynę, 40 na gentamycynę, 23 na tetracyklinę. Tylko 4 szczepy były wrażliwe na sulfadiazynę, sulfametazynę i sulfamerazynę, 30 szczepów na sulfachloropiridazynę. Na 2 j.m. penicyliny było wrażliwych 19, na 10 j.m. 38 badanych szczepów.

G.