

kowe wpływają na upośledzenie czynności zewnątrzwydzielniczej trzustki, a więc suplementacja enzymatyczna może przyspieszyć proces rekonwalescencji, po drugie zaś wczesne stosowanie tych leków w nie rozpoznanej jeszcze ZNT pozwala na utrzymanie prawidłowego ich stężenia w treści jelit i niedoprowadzenia do poważnego wyniszczenia organizmu.

## Piśmiennictwo

1. Barra M. J.: Vet. Pract. 64, 841, 1983.

2. Ettinger S. J.: Textbook of Veterinary Internal Medicine-Diseases of the Dog and Cat. L. B. Saunders Comp., Philadelphia 1983, s. 1435.
3. Kirk R. W., Bistner J. S.: Handbook of Veterinary Procedures and Emergency Treatment. Saunders Comp., 1985 s. 840.
4. Moore R. P.: Cont. Education 2, 57, 1980.
5. Panel Report: Modern Vet. Pract. 61, 794, 1980.
6. Rimaila-Parnanen E., Westermarck E.: Acta vet. Scand. 23, 400, 1982.
7. Strombeck D. R., Wheeldon E., Harrold D.: Am. J. vet. Res. 45, 131, 1984.
8. Stankiewicz W.: Badania laboratoryjne w diagnostyce weterynaryjnej. PWN, Warszawa 1973, s. 303.

Adres autora: dr Maciej Lenarcik, ul. Marszałkowska 111a m 737, 00-102 Warszawa

MIROSLAW KLECZKOWSKI, TADEUSZ ROTKIEWICZ\*, MAREK DĄBROWSKI

## Badania histopatologiczne i histochemiczne narządów wewnętrznych buhajów żywionych paszą ubogą w miedź\*)

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Nowogrodzka 160, 18-400 Łomża  
\* Zakład Anatomii Patologicznej Wydziału Weterynaryjnego ART, 10-720 Olsztyn

## Summary

### Histopathological and histochemical examinations of internal organs of bulls fed Cu-deficient diet

The aim of the investigations was to trace histopathological and histochemical changes in the selected internal organs of bulls fed Cu-deficient diet supplemented with  $\text{CuSO}_4$ . The experiment was done on 18 Black-and-White bulls aged one year and a half for three months. Half of the animals (group A) were given diet containing 4.7 mg Cu/kg of dry matter while the other half (group B) were kept on the same diet supplemented with Cu up to 10 mg/kg of dry matter. In the group A copper content amounted to 7.10  $\mu\text{mol/L}$  of serum, 740  $\mu\text{mol/kg}$  of liver dry matter, 143  $\mu\text{mol/kg}$  of kidney dry matter and 142  $\mu\text{mol/kg}$  of hair dry matter.

In group B these values were higher and amounted to 9.33  $\mu\text{mol/L}$  of serum 2460  $\mu\text{mol/kg}$  of liver dry matter, 203  $\mu\text{mol/kg}$  of kidney dry matter and 212  $\mu\text{mol/kg}$  of hair dry matter.

In all the bulls of the group A morphological changes were found only in kidneys and in the liver. In the liver swelling of hepatic cells around the central veins of lobules, appearance of cytoplasmic granules and disappearance of glycogen were observed. On the lobule circumference, hepatic cells were more eosinophilic and they contained more glycogen. In kidneys, congestion of the vessels among canaliculi, the presence of numerous foci of the connective tissue proliferation in the medulla section and abnormal thickening of basal membranes of the vessels in the glomeruli were noted. In the group B histochemical examinations showed the higher activity of acid phosphatase and the higher activity of both lactic dehydrogenase and succinic dehydrogenase but on the circumference of hepatic lobules only. In the group B this phenomenon was not observed.

W północno-wschodnim rejonie Polski, zwłaszcza w gospodarstwach wielkostatdnych, w żywieniu bydła opasowego dość często stosuje się kisonki z traw. Zdaniem Hidigrou i wsp. (6), Fishera i wsp. (4) oraz Ho i wsp. (7) żywienie bydła takim rodzajem pasz jest przyczyną niskiej podaży miedzi i występowania hipokupremii. Według Barreja (1) prawidłowa zawartość tego pierwiastka we krwi bydła wynosi od 7,8 do 12,5  $\mu\text{mol/l}$ , według Cakały i Rakalskiej (2) od 11,0 do 26,8  $\mu\text{mol/l}$ , natomiast Grys i Kubiński (5) podają, że zawartość tego składnika mineralnego u zdrowego, młodego bydła powinna wynosić od 10,3 do 17,3  $\mu\text{mol/l}$ . Występowanie więc niższych poziomów miedzi we krwi od wartości wymienionych świadczy o istnieniu

hipokupremii, co zdaniem Suttle i wsp. (15, 16) stanowi stan poprzedzający powstawanie zaburzeń morfologicznych w tkankach i narządach. Mills (11) natomiast uważa, że o wiele wcześniej od zmian histopatologicznych dochodzi do powstania zaburzeń w aktywności enzymów w nabłonku jelitowym, wątrobie i mięśniu sercowym. Polegają one głównie na osłabieniu aktywności oksydazy cytochromowej. Podobne wyniki uzyskał Suttle i Angus (17) wywołując eksperymentalną hipokupremię cieląt, gdzie doszło do spadku aktywności tego enzymu w komórkach nabłonkowych dwunastnicy i jelita czczego. Ponadto Fell i wsp. (3) zaobserwowali podobne osłabienie aktywności oksydazy cytochromowej w trzustce bydła dotkniętego hipokupremią. Osłabieniu aktywności tego enzymu towarzyszył wzrost aktywności dehydrogenazy bursztynianowej zarówno w jelitach, jak i w mięśniu sercowym.

Celem niniejszej pracy było przesledzenie zmian histopatologicznych i histochemicznych w wybranych narządach wewnętrznych buhajów żywionych paszą z niedoborem miedzi oraz z dodatkiem siarczanu miedzi. Brak w dostępnym piśmiennictwie podobnych prac eksperymentalnych był dodatkowym uzasadnieniem przeprowadzenia tych badań.

## Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 18 buhajach rasy czarno-białej w wieku 1,5 roku. Doświadczenie trwało 3 miesiące. W ciągu tego okresu zwierzęta przebywały w jednakowych warunkach zoohigienicznych na stanowiskach wysokich, wiazanych. Żywnienie prowadzone było sposobem indywidualnym, zgodnie z Polskimi Normami podanymi przez Rysia (13), zaś dzienna dawka pokarmowa składała się z kisonki z traw, suszu z traw, paszy treściwej i słomy. Ilość paszy zwiększano co 10 dni uwzględniając wzrost przyrostów masy ciała. Każdemu zwierzęciu podawano także po 25 l wody. Wszystkie buhaje sposobem losowym zostały podzielone na 2 grupy (A i B) liczące po 9 zwierząt. Do paszy treściwej zwierząt z grupy B dodawano w ciągu pierwszych dziesięciu dni miedź w formie  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  w ilości 40,8 mg. W ciągu kolejnych cykli 10-dniowych ilość miedzi zwiększano każdorazowo o 2 mg. Buhaje z grupy A dodatku mineralnego nie otrzymywały. Przed przystąpieniem do doświadczenia przeprowadzono analizę chemiczną pasz. Wszystkie zwierzęta poddano dokładnej obserwacji klinicznej oraz trzykrotnie w miesięcznych odstępach czasu pobierano krew i próby młodej sierści celem oznaczenia zawartości miedzi. Na początku i na końcu doświadczenia zwierzęta poddano pomiarom masy ciała. Po zakończeniu badań buhaje ubito pobierając wycinki wątroby i nerek

\*) Badania wykonane w ramach podprogramu CPBR — 10, 17/IV.

do badania na zawartość miedzi oraz dodatkowo ściana trawieńca, dwunastnicy i mięśnia najdłuższego lędźwi do badań histopatologicznych i histochemicznych.

Badania podstawowych składników pokarmowych prowadzono metodami zaproponowanymi przez Lewickiego (10). Miedź i cynk w paszy oznaczono metodą atomowej spektrofotometrii absorpcyjnej podaną przez Sapka (14), molibden metodą rodnikową opisaną przez Kamińską i wsp. (8), zaś siarkę metodą kolorymetryczną zaproponowaną przez Quin i Woods (12). Miedź, cynk i molibden w paszy oznaczono po uprzedniej mineralizacji w mieszaninie stężonego  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HClO}_4$  i  $\text{H}_2\text{SO}_4$  przygotowanych w stosunku 20:4:1, zaś siarkę w mieszaninie  $\text{HNO}_3$  i  $\text{HClO}_4$  w stosunku 20:4. Miedź w tkankach, surowicy i sierści oznaczono metodą atomowej spektrofotometrii absorpcyjnej po uprzedniej mineralizacji polegającej na spaleniu ich w temperaturze  $+450^\circ\text{C}$ .

Wycinki tkanek przeznaczonych do badania histopatologicznego utrwalono w 10% zobojętnionej węglanem wapnia formalnie, a uzyskane skrawki mikrotomowe barwiono hematoksyliną i eozyną, metodą PAS według MacManusa oraz srebrzono według metody Gomoriego. Wycinki przeznaczone do badania histochemicznego były zamrożone w temperaturze  $-25^\circ\text{C}$ , a uzyskane z nich skrawki mikrotomowe użyto do oznaczeń histochemicznej aktywności dehydrogenazy kwasu bursztynowego, dehydrogenazy kwasu mlekowego oraz fosfatazy kwaśnej i zasadowej. Aktywność dehydrogenazy kwasu bursztynowego określano według metody Nachlasy stosując pH 7,4 i reakcję kontrolną z płynem inkubacyjnym bez bursztynianu sodu. Aktywność dehydrogenazy kwasu mlekowego oznaczono również według Nachlasy stosując pH 7,4 i reakcję kontrolną z płynem inkubacyjnym bez mleczanu sodu. Natomiast aktywność histochemiczną fosfatazy kwaśnej i zasadowej określano według metody precypitacyjnej Gomoriego stosując przy pierwszej z nich pH 5,5 i reakcję kontrolną polegającą na dodaniu 0,1 M fluorku sodowego do płynu inkubacyjnego, zaś drugą przy pH 9,4 i reakcji kontrolnej z płynem inkubacyjnym bez beta glicerofosforanu sodu.

Wyniki badań dotyczące zawartości miedzi we krwi i tkankach poddano obliczeniom statystycznym przy pomocy testu Studenta.

### Wyniki i omówienie

Tabela 1 przedstawia skład mineralny paszy i wody stosowanej w żywieniu buhajów. Z uzyskanych badań wynika, że stężenie miedzi w paszy wynosiło 4,7 mg/kg suchej masy, cynku 47 mg/kg suchej masy, molibdenu 1,58 mg/kg suchej masy i siarki siarczanowej 0,37 g/kg suchej masy. Wymienione stężenie miedzi było charakterystyczne jedynie dla buhajów z grupy A. Dodatek składnika mineralnego do paszy zwierząt z grupy B w ciągu pierwszych dziesięciu dni doświadczenia w formie  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  w ilości 40,8 mg, a następnie stopniowe zwiększanie jej ilości o 2 mg spowodowało wzrost stężenia pierwiastka do 10 mg/kg suchej masy paszy. Zwiększona podaż miedzi wpłynęła korzystnie na wyniki produkcyjne zwierząt (grupa B) podwyższając ich końcową masę ciała o 10,4% w stosunku do grupy A (ryc. 1). Zaobserwowano także zwiększoną żywotność buhajów, zaś włos dokładniej przylegał do skóry i stał się bardziej połyskujący. Jak twierdzi Barej (1) stężenie miedzi w paszy niższe od 5 mg/kg suchej masy paszy stanowi wartość niedoborową i wpływa niekorzystnie na ilość pierwiastka we krwi i tkankach. Tabela 2 przedstawia zawartość miedzi w surowicy, sierści oraz w wątrobie i nerkach zwierząt. Uzyskane wyniki badań wskazują, że zawartość składnika mineralnego w surowicy bydła była statystycznie istotnie wyższa ( $p \leq 0,05$ ) w grupie B w stosunku do grupy A. Również ilość miedzi w sierści bydła była istotnie ( $p \leq 0,01$ ) wyższa w grupie B, lecz dopiero po 3 miesiącach doświadczenia. Podobne statystycznie istotne różnice stwierdzono w nerkach zwierząt grupy B, jednak najwyższą zawartość pierwiastka ( $p \leq 0,001$ ) stwierdzono w wątrobie. Biorąc pod uwagę powszechnie przyjmowane zawartości miedzi w surowicy i w wątrobie za prawidłowe,

Tab. 1. Skład mineralny paszy i wody stosowanej w żywieniu buhajów

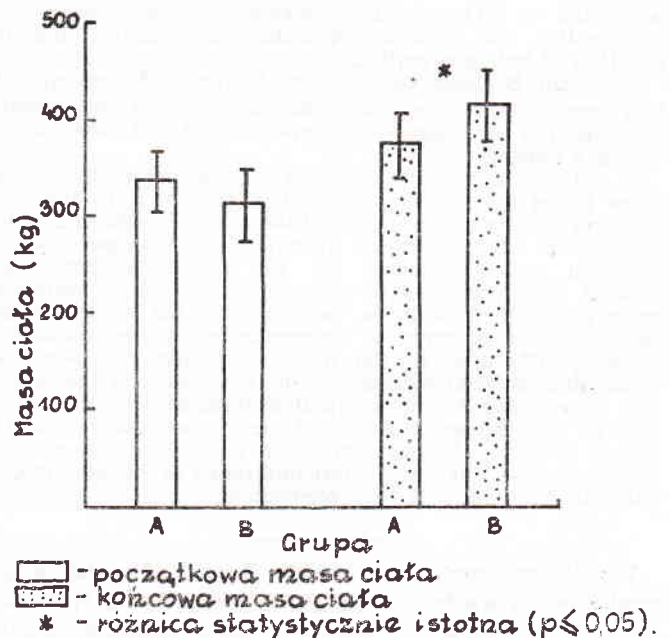
Rodzaj paszy	Ilość* (kg)	Sucha masa (kg)	Cu (mg)	Zn (mg)	Mo (mg)	S** (g)
Kiszonka z traw	15	3,8	16,7	179	5,5	1,18
Susz z traw	1	0,9	3,2	68,6	2,0	0,32
Pasza treściwa	2	1,7	14,6	71,7	3,1	0,97
Słoma	1,5	1,3	1,7	29,3	1,2	0,30
Woda	25	—	0,3	15,0	0,4	0,08
Razem 19,5 + 25 l		7,7	36,5	364	12,2	2,85

Objaśnienia: \* — wymieniona ilość paszy stosowana była jedynie w pierwszych 10 dniach doświadczenia, \*\* — siarka w formie siarczanowej.

Tab. 2. Zawartość miedzi w surowicy, sierści oraz w wątrobie i nerkach buhajów

Grupa	Rodzaj materiału	Numer badania		
		1	2	3
A	Surowica <sup>a</sup>	6,95 ± 1,5	7,57 ± 1,6	7,10 ± 1,5
	Sierść <sup>b</sup>	149 ± 60	140 ± 48	142 ± 29
	Wątroba <sup>b</sup>	—	—	740 ± 157
	Nerka <sup>b</sup>	—	—	143 ± 47
B	Surowica <sup>a</sup>	8,74 ± 1,6*	9,87 ± 2,9	9,33 ± 2,0*
	Sierść <sup>b</sup>	146 ± 45	151 ± 52	212 ± 34**
	Wątroba <sup>b</sup>	—	—	2460 ± 636***
	Nerka <sup>b</sup>	—	—	203 ± 40*

Objaśnienia: a — wartości podano w  $\mu\text{mol/l}$ , b — wartości podano w  $\mu\text{mol/kg}$  suchej masy, \* — różnica statystycznie istotna ( $p \leq 0,05$ ), \*\* — różnica statystycznie wysokoistotna ( $p \leq 0,01$ ), \*\*\* — różnica statystycznie wysokoistotna ( $p \leq 0,001$ ).



Ryc. 1. Początkowa i końcowa masa ciała buhajów

wartości uzyskane w grupie A należy uważać za niskie, lecz charakterystyczne dla zwierząt z niedoborem miedzi.

Badaniem histopatologicznym stwierdzono u wszystkich buhajów grupy A zmiany morfologiczne w wątrobie i nerkach. Pozostałe badane narządy były zbudowane prawidłowo. W wątrobie stwierdzono obrzęknięcie komórek wątrobowych leżących wokół żył centralnych zrazików, zziarnienie ich cytoplazmy i zanik glikogenu. Na obwodzie zrazików komórki wątrobowe wykazywały zwiększoną eozyno-

chłonność i zawierały większe ilości glikogenu. W licznych zrazikach było obecne przekrwienie naczyń śródzrazikowych. Tkanka łączna międzyzrazikowa i w przestrzeniach bramnych była pogrubiona. W nerkach buhajów tej grupy stwierdzono przekrwienie naczyń międzykanalikowych, obecność licznych niewielkich ognisk rozplemu tkanki łącznej w części rdzennej nerek i znaczne zgrubienia błon podstawnych naczyń włosowatych w kłębuszkach nerkowych.

W grupie B badane narządy nie wykazywały zmian histopatologicznych, choć u pojedynczych sztuk stwierdzono przekrwienie nerek, wątroby oraz zwyrodnienie szkliste kanalików nerkowych. Zmiany te mogły powstać na różnym tle i należy uznać je za przypadkowe. Inni autorzy (3, 17) opisywali zmiany morfologiczne w przewodzie pokarmowym u zwierząt z niedoborem miedzi w postaci liczniejszych kosmków, większego ich pofałdowania, ponadto stwierdzali zanik włókien elastycznych w aorcii i nacieki komórkowe. W nerkach natomiast stwierdzili również ogniskowe stwardnienia, lecz były one w części korowej i zanik kanalików nerkowych. W jądrach stwierdzili zanik spermatocytów. Kop i wsp. (9) stwierdzili badaniem mikroskopowo-elektronowym uszkodzenie mitochondriów w mięśniu sercowym.

Badaniem histochemicznym stwierdzono zwiększoną aktywność fosfatazy kwaśnej w wątrobie, głównie wokół żył centralnych zrazików u buhajów z grupy A. Jednak najbardziej charakterystyczne zmiany w aktywności badanych enzymów dotyczyły dehydrogenazy bursztynianowej i mleczanowej. U zwierząt niedoborowych tylko na obwodzie zrazików wątrobowych stwierdzono wysoką aktywność tych enzymów, zaś wokół żył centralnych była bardzo słaba. U zwierząt grupy B zjawisko to nie występowało. Taki rozkład aktywności dehydrogenazy bursztynianowej i mleczanowej można wiązać z faktem, że miedź jest gromadzona w komórkach wątrobowych znajdujących się na obwodzie zrazików. Właściwy poziom miedzi w tych komórkach umożliwia prawidłowe funkcjonowanie mitochondriów, a przy niskim poziomie dochodzi do ich uszkodzenia i spadku aktywności dehydrogenaz. Hipotezę tę potwierdzają również badania Kopa i wsp. (9).

W badaniach własnych wykazano wysoką aktywność dehydrogenazy bursztynianowej i mleczanowej w trawieniu i dwunastnicy buhajów grupy B, zatem wyniki te różniły się od wyników uzyskanych przez Fella i wsp. (3), którzy obserwowali wzrost aktywności dehydrogenazy bursztynianowej w jelitach i mięśniu sercowym u zwierząt z hipokupremią.

#### Wnioski

1. U buhajów żywionych kisonkami z traw występuje często hipokupremia, której towarzyszą uszkodzenia komórek wątrobowych i nerek.
2. Aktywność dehydrogenazy bursztynianowej i mleczanowej zmniejsza się w komórkach zawierających niski poziom miedzi, zaś aktywność fosfatazy kwaśnej w tych komórkach wzrasta.

#### Piśmiennictwo

1. Barej W.: Fizjologiczne podstawy użytkowania bydła. PWRiL, Warszawa, 1986.
2. Czakala S., Rakalska Z.: Niedobory mikroelementów u przeżuwaczy domowych. Inst. Wet. Puławy, 1971.
3. Fell B. F., Farmer L. J., Farguharson C., Bremner I., Graca D. S.: J. Comp. Path. 95, 574, 1985.
4. Fisher L. J., Lister E. E., Jordan W. A., Brossard G. A., Wauthy J. M., Comeau J. E., Proulx J.: Can. J. Anim. Sci. 52, 693, 1972.
5. Grys S., Kubiński T.: Schorzenia metaboliczne u przeżuwaczy domowych. Inst. Wet. Puławy, 1979.
6. Hidiroglou M., Jenkins K. J., Lessard J. R., Carson R. B.: Can. J. Anim. Sci. 50, 279, 1970.
7. Ho S. K., Hidiroglou M., Wauthy J. M., Jenkins K. J., Proulx J.: Can. J. Anim. Sci. 57, 727, 1977.
8. Kamińska T., Kardan T., Strahl A.: Metody badań laboratoryjnych w stacjach chemiczno-rolniczych. Cz. II. Badanie materiału roślinnego. IUNG, Puławy, 1972.
9. Kopp J. S., Klevay M. L., Feliksiak J. M.: Am. J. Physiol. 245, 855, 1983.
10. Lewicki Cz.: Ćwiczenia z żywienia zwierząt i paszoznawstwa. ART Olsztyn, 1984.
11. Mills C. F.: Proc. Nutr. Soc. 33, 267, 1974.
12. Quin H. F., Woods P. H.: Sci. Pl. Anal. 7, 4, 1976.
13. Ryś R.: Normy żywienia zwierząt gospodarskich. PWRiL, Warszawa, 1985.
14. Sapek A.: Metody analizy chemicznej roślinności łąkowej, gleby i wody. Cz. I. Analiza chemiczna roślinności łąkowej. IMiUZ, Falenty, 1979.
15. Suttle N. F., Field A. C., Barlow R. M.: J. Comp. Path. 80, 151, 1970.
16. Suttle N. F.: Anim. Sci. 56, 1078, 1975.
17. Suttle N. F., Angus K. W.: J. Comp. Path. 86, 595, 1976.

Adres autora: dr Mirosław Kleczkowski, ul. J. Korczaka 5, 18-400 Łomża

**BRYSON D. G., MC NULTY M. S., EVANS T. R., ALLAN G.:** Badania nad wpływem rekombinantu ludzkiego interferonu alfa 1 na zakażenie doświadczalne układu oddechowego cieląt wirusem parainfluenzy typ 3. (Studies of the effect of recombinant human alpha 1 interferon on experimental parainfluenza type 3 virus infections of the respiratory tract of calves). Vet. Rec. 125, 615—618, 1989 (25)

Zastosowano ludzki interferon otrzymany na drodze inżynierii genetycznej o zawartości  $1,45 \times 10^7$  jedn/mg białka w badaniach nad nasileniem objawów klinicznych i zasięgiem zmian w płucach cieląt zakażonych doświadczalnie wirusem parainfluenzy 3 (PI3). W jednej serii doświadczeń 43 pary cieląt w wieku 7—10 dni otrzymały  $10^6$  j. interferonu domięśniowo przez 3 kolejne dni i zostały zakażone pierwszym dniem po iniekcji interferonu wirusem PI3 dotchawicowo w trzech różnych dawkach. Nie wykazano żadnego wpływu ochronnego interferonu na przebieg i nasilenie zakażenia wirusem PI3. W drugiej serii doświadczeń przeprowadzonej na cielętach w wieku 6 tygodni zakażonych po podaniu interferonu również nie wykazano jego działania ochronnego na zakażenie wirusem PI3.

G.

**GARDNER I. A., EAMENS G. J., TURNER M. J., HORNITZKY C. L.:** Toksynogeny szczepu typu D Pasteurella multocida w stadach świń w Nowej Południowej Walii: częstotliwość występowania i czynniki związane z zakażeniem. (Toxigenic type D Pasteurella multocida in New South Wales pig herds — prevalence and factors associated with infection). Aust. vet. J. 66, 318—321, 1989 (10)

W okresie od marca do lipca 1987 r. badano częstotliwość występowania oraz czynniki związane z występowaniem

toksynogenego typu D Pasteurella multocida w stadach świń w Nowej Południowej Walii. Typ toksynogeny D wyizolowano z jamy nosowej świń na jednej z 250 wybranych losowo ferm trzody chlewnej. Szczepy posiadające tę właściwość wyosobniono też z 8% (2 z 25) stad zakupionych do ferm zarodowych. Zaburzenia rozwojowe nosa występowały u 9,4% i 3,2% oraz 1,8% warchlaków w trzech stadach, w których występował typ toksynogeny P. multocida. Istniała przy tym duża współzależność między występowaniem zaburzeń klinicznych a obecnością P. multocida w stadzie.

G.

**DUPE R. J., GODDARD L. M., BYWATER R. J.:** Porównanie efektywności dwóch roztworów nawadniających w modelach doświadczalnych odwodnienia i biegunki cieląt. (A comparison of two oral rehydration solution in experimental models of dehydration and diarrhoea in calves). Vet. Rec. 125, 620—624, 1989 (25)

Na wyizolowanych pętlach jelitowych cieląt poddanych narkozie w doświadczalnym modelu odwodnienia z doświadczalnie wywołaną biegunką oraz na 164 cielętach z klinicznymi objawami biegunki przebadano przydatność dwóch płynów rehydracyjnych (ORS1 i ORS2). Absorpcja wody była znacznie wyższa w przypadku płynu ORS2, podczas gdy objętość plazmy wyraźnie obniżała się w czasie 3 godz. po zastosowaniu płynu ORS1. Kwasica natomiast była w większym stopniu skorelowana ze stosowaniem ORS2. U cieląt z biegunką wywołaną doświadczalnie zakażeniem Escherichia coli zarówno niedobór płynów, jak i biegunka ustępowały szybciej po płynie ORS1.

G.