

MICHAŁ KWAST

WPŁYW NIEDOBORU BIAŁKA NA WCHŁANIANIE CYNKU Z JELITA CIENKIEGO I ZAWARTOŚĆ CYNKU I MIEDZI W NARZĄDACH WEWNĘTRZNYCH SZCZURA

Z Zakładu Badania Żywności i Przedmiotów Użytku Państwowego Zakładu Higieny
w Warszawie

Kierownik: prof. dr M. Nikonorow

*Zbadano wpływ niedoboru białka w paszy przy trzech jego poziomach (24%, 8% i 4%) na wchłanianie cynku z izolowanych odwróconych woreczków jelita szczura. W badaniach *in vivo* u szczurów, karmionych paszą z różną zawartością białka (24% i 4%) bez lub z dodatkiem 500 mg/kg Zn lub 100 mg/kg Cu oznaczono zawartość obu tych metali w wątrobie i nerkach oraz Zn w kościach.*

Jednym z czynników, wpływających na przenikanie przez jelito i odkładanie się metali w narządach wewnętrznych jest rodzaj i ilość spożywanego białka. Szereg danych wskazuje na to, że białko pochodzenia roślinnego powoduje niedobór cynku w organizmie, a białko zwierzęce wpływa na jego lepsze przyswajanie i szybszy rozwój zwierząt, przy fizjologicznym poziomie metalu w paszy [7, 8]. Natomiast przy znacznym nadmiarze cynku (do 7000 mg/kg) pasza, w której źródłem białka było ziarno soi, powodowała szybszy wzrost szczurów, zwiększenie zawartości hemoglobiny we krwi i zmniejszenie poziomu cynku w wątrobie w porównaniu ze szczurami, karmionymi paszą zawierającą kazeinę i te same ilości cynku. Spowodowane to było tworzeniem się kompleksów cynku z pewnymi składnikami białka sojowego i wapniem, co obniżało wchłanianie metalu i w konsekwencji zmniejszało efekty toksyczne [2].

Niedobór białka w połączeniu z niedoborem cynku powoduje znaczny wzrost śmiertelności zwierząt. Przy zawartości w paszy 4—8% białka w postaci ziarna soi oraz braku cynku śmiertelność wynosiła 75%, a w grupie otrzymującej te same ilości białka ale z dodatkiem 55 mg Zn/kg — 8%. Wzrost szczurów karmionych paszami zawierającymi 12—20% ziarna soi z dodatkiem 55 mg Zn/kg nie różnił się między sobą. Pasza sojowa, uzupełniona cynkiem, jest wykorzystywana przez zwierzęta w takim samym stopniu, jak pasza kazeinowa [13].

Van Campen i House [4] badali wpływ poziomu białka i cynku na pozostałość jednorazowej dawki doustnej Zn-65 oraz na zawartość cynku, miedzi i żelaza w narządach szczurów. Obniżenie zawartości kazeiny z 15 do 5% powodowało zmniejszenie zawartości cynku w osoczu, wątrobie, nerkach i jelicie cienkim przy obu stosowanych poziomach cynku (9 i 33 mg/kg) oraz zmniejszenie retencji jednorazowej dawki Zn-65. Jednocześnie wzrastało wydalanie tego metalu. Zdaniem autorów, ważną konsekwencją niedoboru białka może być niedobór cynku w organizmie wskutek zmniejszenia jego absorpcji i zwiększenia wydalania.

W piśmiennictwie spotyka się wiele prac poświęconych badaniu wpływu zawartości cynku i miedzi w paszy na rozwój zwierząt i stężenie tych metali w tkankach [3, 5, 10, 12, 14]. Sporn i wsp. [16] są zdania, że 31 mg Zn/kg lub 11 mg Cu/kg w diecie, zawierającej 18% kazeiny, nie powoduje jeszcze wyraźnych efektów toksycznych, mimo że ilości te są na poziomie górnych dopuszczalnych dawek. Natomiast Pallauf i Kirchgessner karmiąc szczury przez 24 dni paszą zawierającą różne ilości cynku nie zaobserwowali efektów toksycznych nawet przy 500 mg Zn/kg [15]. Przyjmuje się, że optymalne stężenie cynku w paszy wynosi 6—33 mg/kg [4, 11, 15, 17] a miedzi — poniżej 10 mg/kg [10, 15].

Celem niniejszej pracy było zbadanie, czy poziom białka wpływa na wchłanianie cynku z jelita cienkiego oraz na zawartość cynku i miedzi w niektórych narządach i tkankach przy podawaniu tych metali w paszy. We wszystkich doświadczeniach źródłem białka była kazeina.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

W pierwszej części pracy zbadano *in vitro* wpływ 3-miesięcznego karmienia szczurów paszami, zawierającymi różne ilości białka (24%, 8% i 4%) na przenikanie cynku z woreczków jelitowych, wg metody Wiisona i Wisemana [18]. Szczury głodzone przez 24 godziny przed wykonaniem doświadczenia, dekapitowano w lekkiej narkozie eterowej i skrwawiano. Wycinano jelito cienkie, przemywano je i oczyszczano od krezki i tkanki tłuszczowej. Odcinano jelito czcze i kręte, odwracano za pomocą bagietki szklanej i po zawiązaniu jednego końca zawieszano w termostacie (temp. 37°C) na kaniuli szklanej w roztworze inkubacyjnym o następującym składzie (ilości podano w mg/dm³ 0,01 M buforu Tris-HCl o pH 7,3):

NaCl-8500, KCl-350, CaCl₂-200, glukoza-1000, cynku- 2×10^{-4} M.

Do woreczka jelitowego wlewano 0,5 cm³ roztworu inkubacyjnego z metalem (doświadczenie A — aktywny transport) lub bez metalu (doświadczenie B — pasywna dyfuzja). Po upływie jednej godziny mierzono metodą absorpcji atomowej [6] stężenie metalu po stronie surowiczej woreczka i obliczano szybkość przenikania metalu, uwzględniając wydostawanie się do roztworów cynku, zawartego w komórkach śluzówki.

W drugiej części pracy badano stężenie cynku i miedzi w wątrobie i nerkach oraz cynku w kościach u szczurów-samców, rasy Wistar, karmionych półsyntetyczną paszą podstawową bez lub z dodatkiem 500 mg/kg cynku (jako octan cynku) lub 100 mg/kg miedzi (jako octan miedzi). Zwierzęta, podzielone na 6 grup po 5 zwierząt w każdej, umieszczono w specjalnych klatkach szklanych własnej konstrukcji i karmiono paszą o następującej zawartości białka i metali:

Grupa zwierząt	Białko (%)	Metal
1	24	—
2	24	500 mg/kg Zn
3	24	100 mg/kg Cu
4	4	—
5	4	500 mg/kg Zn
6	4	100 mg/kg Cu

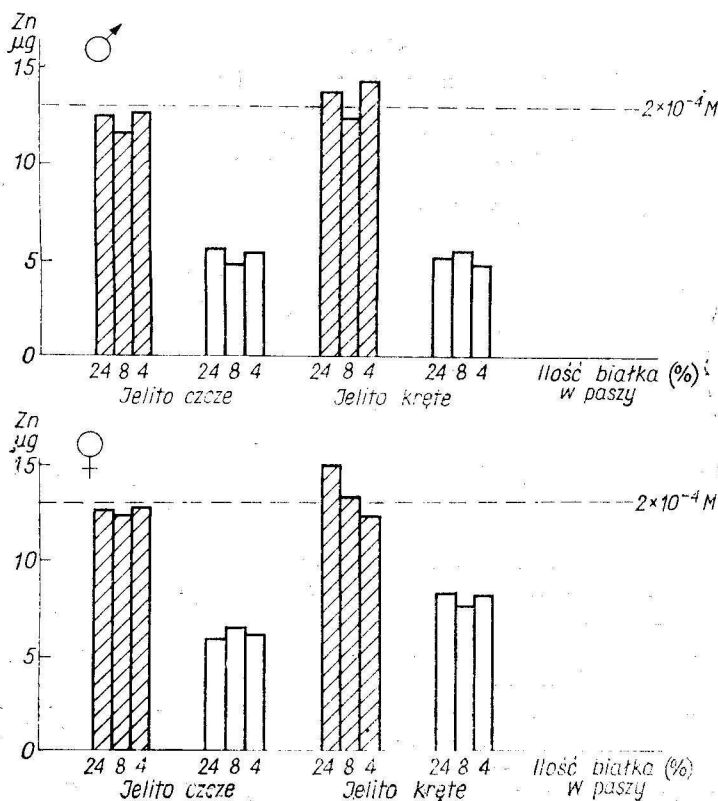
Rejestrowano przyrost ciężaru ciała oraz spożycie paszy. Po upływie 5 tygodni zwierzęta zabijano, wycinano narządy wewnętrzne i spalano je na mokro w kolbach Kjeldahla w mieszaninie, zawierającej 1 ml stężonego kwasu siarkowego oraz stężony kwas azotowy i nadchlorowy w stosunku 1:1. Po odpowiednim rozcieńczeniu i przesączeniu otrzymanego mineralizatu oznaczano zawartość metali metodą absorpcji atomowej: w wątrobie i nerce wg metody [9] a w kościach wg metody [1].

Równolegle wykonano 3-miesięczne doświadczenie na myszach, którym do paszy, zawierającej 24% lub 4% białka dodano 500 mg/kg cynku jako octan cynku. Myszy (samce i samice) podzielono na grupy po 10 sztuk w każdej i umieszczono w słojach szklanych. Po upływie 3 miesięcy zwierzęta zabijano a zawartość cynku i miedzi w wątrobie i nerkach oznaczono, podobnie jak u szczurów, metodą absorpcji atomowej.

Obliczenie istotności otrzymanych wyników wykonano wg testu *t-Studenta*.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Wpływ poziomu białka na przenikanie cynku przez różne odcinki jelita cienkiego szczura przedstawiono na rycinie 1:



Ryc. 1. Wpływ zawartości białka w paszy na przenikanie cynku przez izolowane woreczki jelita cienkiego szczura. Pole zakreskowane — doświadczenie A (cynk dodano do roztworów po obu stronach woreczka jelitowego). Pole białe — doświadczenie B (cynk dodano do roztworu po stronie śluzówkowej woreczka jelitowego).

Jak wynika z otrzymanych rezultatów, brak jest wyraźnego wpływu poziomu białka w paszy na przenikanie cynku przez izolowane woreczki jelita czczego i krętego szczurów. Chociaż celem pracy nie było wyjaśnienie mechanizmów wchłaniania cynku, które do chwili obecnej pozostają jeszcze niejasne, można powiedzieć, że w obu analizowanych odcinkach jelita nie ma aktywnego transportu tego metalu oraz że w jelicie krętym wchłaniania się nieco szybciej niż w jelicie czczym.

Karmienie szczurów przez 1 miesiąc paszami z różną zawartością białka spowodowało zmiany w przyrostach ciężaru ciała natomiast brak było zmian w spożyciu paszy. Dodanie miedzi i cynku do paszy nie spowodowało istotnych zmian w obu tych wskaźnikach w porównaniu z odpowiednimi paszami kontrolnymi. Jedynie spożycie paszy z dodatkiem cynku przy 4%-owej zawartości białka miało przez cały okres doświadczalny tendencję wzrostową.

Stężenie wody w wątroby i nerek u szczurów karmionych paszą o 24%-owej zawartości białka zmniejszał się nieznacznie u szczurów karmionych paszami z dodatkiem miedzi i cynku, natomiast przy 4% białka w paszy u szczurów karmionych tymi metalami powodował nieznaczny wzrost ciężaru tych narządów (tab. I).

Tabela I

Średnie ciężary ciała zwierząt oraz ciężary wątroby i nerek w zależności od rodzaju paszy (w g)

Stężenie białka (%) i metali w paszy	Średni ciężar szczura	Średni ciężar wątroby	Średni ciężar nerek
24% białka	203±24	9,46±2,53	1,74±0,25
24% białka + 500 mg Zn/kg	199±46	7,63±3,11	1,50±0,50
24% białka + 100 mg Cu/kg	192±24	8,00±1,39	1,55±0,28
4% białka	95±33	3,74±1,02	0,73±0,19
4% białka + 500 mg Zn/kg	111±13	4,34±0,47	0,81±0,08
4% białka + 100 mg Cu/kg	104±24	4,40±1,42	0,83±0,20

W tabelach II i III przedstawiono zawartość miedzi i cynku w narządach i tkankach szczurów karmionych przez 5 tygodni paszą kontrolną oraz paszami zawierającymi różne ilości białka i badanych metali.

Obniżenie do paszy 500 mg Zn/kg wywołało istotne statystycznie zwiększenie zawartości cynku w wątrobie i kościach, a dodanie 100 mg Cu/kg spowodowało również istotny wzrost zawartości miedzi w wątrobie.

Obniżenie poziomu białka w paszy kontrolnej (zawartość cynku 100 mg/kg, zawartość miedzi 5,0 mg/kg) spowodowało zmniejszenie ilości cynku w nerkach i kościach, gdy tymczasem w wątrobie zawartość tego metalu wzrosła. Zmiany te jednak, z wyjątkiem zmian w kościach, nie miały charakteru istotnego.

U szczurów karmionych paszami z dodatkiem 500 mg Zn/kg stężenie tego metalu we wszystkich przebadanych narządach i tkankach maleje przy obniżeniu białka w paszy, jednak tylko spadek zawartości cynku w kościach jest istotny statystycznie. Jednocześnie zawartość miedzi w wątrobie i nerkach miała tendencję wzrostową.

U szczurów karmionych paszami z dodatkiem 100 mg Cu/kg nie stwierdzono istotnych statystycznie zmian w stężeniu tego metalu w nerkach, natomiast w wątrobie miał miejsce spadek zawartości Cu z $8,10 \pm \pm 4,00$ do $4,00 \pm 2,15$ $\mu\text{g/g}$ tkanki przy obniżeniu poziomu białka. Jednocześnie nastąpiło nieznaczne obniżenie stężenia cynku.

Doświadczenie wykonane na myszach pozwala stwierdzić, że samice są bardziej wrażliwe na zmiany poziomu białka i cynku w paszy, niż samce. Analiza zawartości cynku i miedzi w wątrobie i nerkach wska-

Tabela II
Zawartość miedzi w narządach szczura w zależności od rodzaju paszy (w $\mu\text{g/g}$ świeżej tkanki)

Narząd	Ilość białka (%) i metalu w paszy				
	24	24+ 500 mg/kg cynku	24+ 100 mg/kg miedzi	4	4+ 500 mg/kg cynku 100 mg/kg miedzi
Wątroba	3,86 ± 0,12	5,15 ± 4,61	8,10 ± 4,00 ¹⁾	4,90 ± 2,16	4,12 ± 0,56
Nerka	10,22 ± 4,60	7,72 ± 1,25	10,29 ± 2,36	10,17 ± 2,67	11,44 ± 4,89
					10,76 ± 3,03

¹⁾ Różnica istotna statystycznie w porównaniu z odpowiednią grupą zwierząt, karmioną paszą o tym samym poziomie białka bez metalu ($P=0,05$)

²⁾ Różnica istotna statystycznie w porównaniu z odpowiednią grupą zwierząt, karmioną paszą o tej samej ilości metalu i normalnym poziomie białka ($P=0,05$)

Tabela III
Zawartość cynku w narządach i tkankach szczura w zależności od rodzaju paszy (w $\mu\text{g/g}$ świeżej tkanki)

Narząd, tkanka	Ilość białka (%) i metalu w paszy				
	24	24 + 500 mg/kg cynku	24 + 100 mg/kg miedzi	4 500 mg/kg cynku	4 + 100 mg/kg miedzi
Wątroba	24,7 ± 5,0	32,7 ± 4,2 ¹⁾	28,2 ± 2,6	31,2 ± 9,3	22,7 ± 5,1 ¹⁾
Nerka	27,6 ± 5,6	30,0 ± 2,6	27,7 ± 2,6	22,8 ± 4,5	26,1 ± 5,9
Kość	188,5 ± 15,0	196,9 ± 19,9	176,0 ± 32,2	114,8 ± 35,3 ²⁾	119,6 ± 26,6 ²⁾

¹⁾ Różnica istotna statystycznie w porównaniu z odpowiednią grupą zwierząt, karmioną paszą o tym samym poziomie białka bez metalu ($P=0,05$)

²⁾ Różnica istotna statystycznie w porównaniu z odpowiednią grupą zwierząt, karmioną paszą o tej samej ilości metalu i normalnym poziomie białka ($P=0,05$)

zuje na znaczne zwiększenie zawartości cynku w nerkach przy 4% białka w paszy przy jednoczesnym spadku zawartości miedzi. Istotnych zmian w wartości u myszy nie zaobserwowano.

Fakt zwiększenia zawartości cynku i miedzi w wątrobie przy dodaniu tych metali do paszy został stwierdzony przez innych autorów [3, 5, 17]. Natomiast danych, dotyczących wpływu poziomu białka na zawartość cynku i miedzi w narządach jest stosunkowo mało. Z pracy niniejszej wynika, że niedobór białka w paszy z dodatkiem cynku lub miedzi powoduje albo istotne statystycznie obniżenie zawartości tych metali (cynku w kościach, miedzi w wątrobie) albo też wywołuje tendencję w kierunku ich obniżenia (cynk w wątrobie i nerkach). Ciekawy przy tym jest fakt jednoczesnego obniżenia zawartości miedzi i cynku w wątrobie przy obniżeniu poziomu białka zarówno u szczurów karmionych paszą z dodatkiem cynku, jak i paszą z dodatkiem miedzi. Być może dłuższy okres karmienia zwierząt spowodowałby jaśniej wyrażone zmiany w badanych narządach. Należy także zwrócić uwagę na fakt, że zastosowane poziomy cynku i miedzi są stosunkowo wysokie. Mimo to jednak uzyskane dane pokrywają się z wnioskiem *van Campen'a i House'a* [4] o możliwości zaistnienia niedoboru cynku przy niedoborze białka w paszy.

М. Кваст

ВЛИЯНИЕ НЕДОСТАТКА БЕЛКА НА ПРОНИКНОВЕНИЕ ЦИНКА ЧЕРЕЗ ТОНКИЙ КИШЕЧНИК И СОДЕРЖАНИЕ ЦИНКА И МЕДИ ВО ВНУТРЕННИХ ОРГАНАХ КРЫС

Резюме

Исследовано влияние недостатка белка при трёх его уровнях в корме (24%, 8% и 4%) на проникновение цинка через изолированные вывернутые участки тощей и подвздошной кишок. В исследованиях *in vivo* у крыс, кормленных пищей с разным содержанием белка (24% и 4%) без или с добавлением 500 мг цинка/кг пищи или 100 мг меди/кг пищи (в форме уксуснокислых солей), определено содержание обоих этих металлов в печени и почках и цинка в костях. Не установлено влияния уровня белка на проникновение цинка *in vitro*. Кормление крыс в течение 5 недель пищей с добавлением цинка привело к статистически существенному повышению содержания этого металла в костях и печени. При понижении уровня белка содержание цинка в печени и костях, а также в почках, понижалось, при чём статистически существенное уменьшение имело место только в костях. Содержание меди возрастало в печени крыс, кормленных пищей с добавлением этого металла и существенно уменьшалось при недостатке белка. Существенных изменений в почках не обнаружено.

M. Kwast

THE EFFECT OF PROTEIN DEFICIENCY ON ZINC ABSORPTION FROM THE SMALL INTESTINE AND ZINC AND COPPER CONTENTS OF RAT ORGANS

Summary

The effects of protein deficiency were investigated at three levels of protein in the food (24%, 8% and 4%) on the absorption of zinc in isolated reversed loops of jejunum and ileum. In *in vivo* investigations on rats receiving food with varying levels of protein (24%, or 4%) with or without addition of zinc 500 mg/kg (zinc acetate) or copper 100 mg/kg (copper acetate) the content of both these metals was

determined in the liver and kidneys and the content of zinc in the bones. *In vitro* no effect of protein level on zinc absorption was observed. Feeding of rats during 5 weeks with food containing zinc caused a statistically significant increase in the level of this metal in the bones and liver. When the dietary protein was low the zinc content of the liver, kidneys and bones fell but this fall was statistically significant only in the bones. The copper content increased in the liver of rats kept on diet with copper added and decreased significantly when the diet was deficient in protein. No significant changes of copper level were observed in the kidneys.

PIŚMIENICTWO

1. *Blincoe C., Bohman V. R.*: Bone zinc concentration in range cattle. *J. Agric. Food Chem.* 1966, 14, 645. — 2. *McCall J. T., Mason J. V., Davis G. K.*: Effect of source and level of dietary protein on the toxicity of zinc to the rat. *J. Nutr.* 1961, 74, 51. — 3. *Chu R. C., Cox D. H.*: Zinc, iron, copper, calcium, cytochrome oxidase and phospholipid in rats of lactating mothers fed excess zinc. *Nutr. Rep. Internat.* 1972, 5 (1), 61. — 4. *van Campen D., House W. A.*: Effect of a low protein diet on retention of an oral dose of Zn^{65} and on tissue concentration of zinc, iron and copper in rats. *J. Nutr.* 1974, 104, 84. — 5. *Cox D. H.*: Excess dietary zinc and subcellular changes in hepatic zinc, iron and copper in maternal and fetal rats. *Nutr. Rep. Internat.* 1972, 5 (2), 145. — 6. *David D. J.*: Determination of Zn and other elements in plants by atomic-absorption spectroscopy. *Analyst.* 1958, 83, 655. — 7. *O'Dell B. L.*: Effect of dietary components upon zinc availability. A review with original data. *Amer. J. Clin. Nutr.* 1969, 22, 1315. — 8. *O'Dell B. L., Burpo C. E., Savage J. E.*: Evaluation of zinc availability in foodstuffs of plant and animal origin. *J. Nutr.* 1972, 102, 653. — 9. *Fuwa K., Pulido P., McKay R., Vallee B.*: Determination of zinc in biological materials by atomic-absorption spectrophotometry. *Anal. Chem.* 1964, 36, 2407. — 10. *Gipp W. F., Pond W. G., Tasker J., van Campen D., Krook L., Visek W. J.*: Influence of level of dietary copper in weight gain hematology and liver copper and iron storage of young pigs. *J. Nutr.* 1973, 103, 713. — 11. *Huber A. M., Sershoff S. N.*: Effect of dietary zinc and calcium on the retention and distribution of zinc in rats fed semipurified diets. *J. Nutr.* 1970, 100, 949. — 12. *Mutch P. B., Hurley L. S.*: Effect of zinc deficiency during lactation on postnatal growth and development of rats. *J. Nutr.* 1974, 104, 828. — 13. *Oberleas D., Passard A. S.*: Growth as affected by zinc and protein nutrition. *Amer. J. Clin. Nutr.* 1969, 22, 1304. — 14. *Pallauf J., Kirchgessner M.*: Konzentration und Verteilung des Zink im Organismus. 1. Zum Stoffwechsel des Zinks im tierischen Organismus. *Z. Tierphysiol. Tierernähr.* 1971, 28, 121. — 15. *Pallauf J., Kirchgessner M.*: Zum Zinkbedarf wachsenden Ratten. *Int. J. Vit. Nutr. Res.* 1971, 41, 543. — 16. *Sporn A., Dinu I., Stoienescu L.*: Cercetari privind toxicitatea zincului, cuprului, plumbului si arsenului. *Igiena*, 1968, 17, 719. — 17. *Sporn A., Rautu R.*: Concentratia in ficatul si rinichiul sobolanului alb, a zincului, cuprului, plumbului si arsenului, administrate in diverse asocieri. *Igiena*, 1969, 18, 13. — 18. *Wilson T. H., Wiseman G.*: The use of sacs everted small intestine for the study of the transference of substances from the mucosal to the serosal surface. *J. Physiol.* 1954, 123, 116.

Dn. 21.II.1975 r.

00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24.