

## 6 Zusammenfassung

Zur Untersuchung der Pathogenese und Diagnostik der chronischen Kupfervergiftung der Schafe wurden 15 kastrierte Schafböcke über 84 Tage einer oralen Kupferbelastung von 3,564 mg/d/kg KM ausgesetzt. 11 unbehandelte Schafböcke dienten als Kontrolltiere. In beiden Gruppen waren Merinolandschafe und Schwarzkopf-Suffolk-Kreuzungen vertreten. Vor, während und bis 11 Monate nach der erhöhten Kupfergabe wurde in regelmäßig, biotisch gewonnenen Leberproben der Kupfergehalt bestimmt. Im Plasma wurden die Meßgrößen Hämoglobin, Hamatokrit, Leukozytenzahl, Glutamat-Dehydrogenase, Gamma-Glutamyl-Transferase, Aspartat-Amino-Transferase, Gesamtbilirubin, Gesamtprotein, Creatinin, Harnstoff, Ammoniak, Gesamtgallensäuren und Kupfer untersucht. Zudem wurde Liquor cytologisch untersucht und der Ammoniakgehalt im Liquor bestimmt. Mehrmals wurden dreitägige Kupferbilanzen erstellt, Bromsulfophthalein-Eliminationstests und Kupfermobilisationsversuche mit D-Penicillamin und Ammoniumtetrathiomolybdat durchgeführt. Zudem wurde in Wollproben der Kupfergehalt ermittelt und Lebergewebe pathomorphologisch untersucht.

Keines der Tiere entwickelte eine Hämolyse. Der zeitliche Verlauf der Kupferspeicherung im Lebergewebe konnte als multiple Regression mit einer Bestimmtheit von  $r^2 > 0,75$  und nach Überschreiten des Maximums mit einer Halbwertszeit von  $175 \pm 91$  Tagen beschrieben werden. Die höchsten Leber-Kupfer-Konzentrationen wurden erst nach Ende der Phase der erhöhten, täglichen Kupfergabe beobachtet (85 - 180 Versuchstag:  $396 + 165$  mg/kg Frischsubstanz). Die Kupferbilanzen untermauerten die progressive Kupferretention im Organismus und erwiesen, daß kupfervergiftete Tiere auch nach Absetzen der Kupferbelastung positive Kupferbilanzen aufweisen können.

Degenerative Veränderungen des Lebergewebes konnten bei den kupfervergifteten Tieren durch regelmäßig erhöhte Plasmaenzymkonzentrationen, insbesondere der Glutamat-Dehydrogenase, nachgewiesen werden. Sowohl für die Kupferspeicherung in der Leber als auch für Plasmaenzymuntersuchungen und Leberfunktionstests

ließen sich Rasseunterschiede und individuelle Unterschiede nachweisen. Die Woll-Kupfer-Gehalte waren bei der Kontroll- und der kupfervergifteten Gruppe annähernd gleich.

Abnahmen der Bromsulphothaleinclearance während und nach der Kupfervergiftung ließen auf eine deutliche Einschränkung der Leberfunktionsleistung schließen. Die Konzentrationen von Gesamtbilirubin, Gesamtgallensäuren und Ammoniak erbrachten jedoch keine Hinweise auf gravierende Leberfunktionsstörungen.

Durch einmalige D-Penicillaminapplikation konnte bei den kupfervergifteten Tieren eine stärkere Steigerung der Kupferausscheidung über den Harn induziert werden als bei den Kontrolltieren ( $p < 0.01$ ). Insgesamt war das Ausmaß der induzierten Kupfuresee gering. Als diagnostischer Test zur Erkennung kupferbelasteter Schafe wies D-Penicillamin eine geringe Sensitivität von 67% bei einer Spezifität von 77% auf.

Eine einmalige Ammoniumtetrathiomolybdatapplikation führte zu einer gesteigerten Kupferbilanz und einem Anstieg der Gesamt-Kupfer-Konzentration im Plasma. Durch Komplexbildung wurde Kupfer in eine metabolisch nicht verfügbare Form überführt, therapeutisch scheint diese Substanz zur Eindämmung der akuten hämolytischen Toxizität freigesetzter Kupferionen geeignet zu sein. Eine Förderung der Kupferausscheidung oder Abnahme des Leberkupfergehaltes konnte nach einmaliger Ammoniumtetrathiomolybdatgabe nicht beobachtet werden.

Die Lebern der kupfervergifteten Tiere wiesen makroskopisch keine besonderen Befunde auf. Pathohistologisch waren vereinzelt geringgradige, degenerative Veränderungen festzustellen. Es gab jedoch keine Hinweise auf Leberzirrhose.

## 7 Summary

Esther Humann

Investigations of pathogenesis and diagnostic of chronic copper poisoning in sheep

Fifteen one year old castrated male sheep were exposed to a daily oral copper intake of 3.564 mg/kg body weight for 84 days so as to study pathogenesis and diagnostic in chronic copper poisoning. Eleven one year old castrated male sheep served as controls. The breeds Merinolandschaf and Schwarzkopf-Suffolk-crossbreed were represented in each group.

Liver copper content was measured in liver biopsies before, during and up to eleven months after copper dosing. Blood samples were taken frequently and analysed for haemoglobin, haematocrit, leukocytes, glutamat-dehydrogenase, gamma-glutamyl-transferase, aspartat-amino-transferase, total bilirubin, total protein, creatinine, blood urea, total bile acids, ammonia and copper. Moreover, cerebrospinal fluid was examined cytologically and analysed for ammonia.

Several times Cu-balance studies of three days and bromsulfophthalein-eliminationtests were carried out.

The two drugs d-penicillamine and ammoniumtetrathiomolybdate were given in order to examine copper metabolism and excretion after a single dosage.

Moreover, copper content in the wool was measured. Postmortem examinations and histological investigations of liver samples were made.

Not one of the sheep developed haemolysis. Changes in liver copper content during the experiment could be demonstrated as a function of multiple regression with  $r^2 > 0.75$ . The half life period of liver copper content after exceeding the maximum was  $175 \pm 91$  days. The highest values of liver copper content were measured after the period of copper dosage (day 85 -180:  $396 \pm 165$  mg/kg liver freshweight). The results of the copper balance examinations supported the progressive copper retention of the body, and indicated that copper poisoned sheep

are still able to show a positive copper balance after have stopped the extra copper dosage

Frequently high values of plasma enzymes, especially glutamat-dehydrogenase, represented degeneration of liver tissue in copper poisoned sheep. Breed difference and individual differences in liver copper storage, plasma enzyme values and liver function tests were evident. No difference was found in copper content of the wool in healthy and copper poisoned sheep.

The diminished clearance of bromsulphophthalein during and after the period of copper dosage rendered depression of the liver function. The levels of total bilirubin, total bile acids and ammonia remained unaffected.

D-penicillamine dosage induced a significantly higher cupruresis in copper poisoned sheep than in healthy ones. Altogether, the quantity of cupruresis was low. Values of urinary copper excretion after d-penicillamine dosage for the diagnosis of chronic copper poisoning showed a slight sensitivity of 67% and a specificity of 77%.

Intravenous administration of ammoniumtetrathiomolybdate led to an increased copper balance and a rise in total copper concentration of the plasma. The short term effect of the drug in the blood forms metabolical unavailable complexes with copper. Ammoniumtetrathiomolybdate seems to be worthwhile for therapeutical use in the case of the onset of haemolysis, to prevent free copper ions to develop toxic effects. No increase in copper excretions in faeces or depression of liver copper content could be observed after a single dosage of the drug.

There were no macroscopical changes in the liver of chronic copper poisoned sheep. Pathohistological examinations showed signs of low-grade hepatocellular degeneration, but no evidence of cirrhosis in the liver.