

Z Zakładu Chemii Fizjologicznej Akademii Medycznej w Lublinie  
Kierownik: prof. dr Janina Opińska-Blauth

Janina OPIEŃSKA-BLAUTH, Maria SZWAJ  
Maria PIETRUSIEWICZ

**Badania nad gospodarką miedziową w ustroju**  
**I. Miedź w płynach ustrojowych u ludzi zdrowych**

**Исследования над обменом медью в организме**  
**I. Медь в органических жидкостях у здоровых людей**

**Investigations on Copper Metabolism in the Organism**  
**I. Copper in Body Fluids of Healthy Man**

Zagadnieniem miedzi w ustroju interesowały się głównie dwie grupy autorów: skandynawska — Holmberg, Laurell i wsp. (21, 22, 23, 24) i amerykańska — Cartwright, Lahey, Wintrobe i wsp. (2, 5, 6, 7, 8, 9, 15, 16, 17, 18, 19, 25, 26, 31, 43). Określano poziom miedzi w krwi pełnej, krwinkach, osoczu, surowicy, frakcjach białkowych surowicy, w moczu u ludzi zdrowych i w niektórych schorzeniach. Ponadto badano własności enzymatyczne niektórych białek surowicy zawierających miedź z grupy oksydaz (23, 24). Zmiany w poziomie miedzi we krwi i w ilościach wydalanych w moczu wykazano w szczególności w chorobie znanej pod nazwą zwyrodnienia soczewkowo-wątrobowego, albo Wilsona-Westfala (3, 44, 29, 43, 36, 30, 11, 6, 4), w chorobach zakaźnych (32a), w stanach anemii (7, 8), w zespole nerczycowym (31) i w późnych okresach ciąży (34, 16, 25, 31, 40).

Do oznaczeń miedzi stosuje się głównie metody kolorymetryczne oparte na reakcji z dwuetylodwutiokarbaminianem sodu (15). Miedź występuje we krwi prawdopodobnie wyłącznie tylko w związku z białkami, a to w trwalszym kompleksie z globulinami i mniej trwałym z albuminami. W kompleksie albuminowym udaje się oznaczyć miedź bezpośrednio bez poprzedzającej hydrolizy (frakcja bezpośrednia — „direct”) w przeciwstawieniu do kompleksu globulinowego, w którym oznacza się miedź dopiero po hydrolizie (frakcja pośrednia — „indirect”) (31). We krwi u ludzi zdrowych blisko 100% miedzi wiąże się z globulinami, a nieznaczny tylko jej odsetek przypada na wiązanie z albuminami.

W niektórych stanach chorobowych zmienia się ten stosunek na korzyść połączenia z albuminami. Np. dla choroby Wilsona-Westfala właściwe jest obniżenie poziomu miedzi we krwi (hipokupremia) i zmieniony stosunek rozłożenia miedzi w frakcjach białkowych na korzyść frakcji albuminowej. Tak jak dla choroby Wilsona-Westfala (39) właściwa jest hipokupremia i hiperkupruria, tak dla

wielu innych schorzeń wyżej wymienionych, hiperkuperii towarzyszy hiperkuperia. Zaburzeniom gospodarki miedziowej towarzyszą zwykle zmiany w obrazie aminokwasowym w moczu nie tylko ilościowe lecz i jakościowe. Szczególnie specyficzne aminoacidurie wykrywano w chorobie Wilsona-Westfala. Teoretyczne powiązanie gospodarki miedziowej w ustroju ze składem aminokwasowym w płynach ustrojowych pozostaje do wyjaśnienia. Badania Clarksona i Kencha (10) przeprowadzane u pracowników narażonych w pracy zawodowej na zatrucia związkami arsenu, rtęci, ołowiu, nasuwają przypuszczenia o powstawaniu kompleksów aminokwasów z miedzią, które być może w tej postaci są wydalane w moczu.

Celem naszych badań jest rozwiązywanie następujących zagadnień:

1) wykrycie zależności między miedzią a aminokwasami na podstawie równoległe przeprowadzanych oznaczeń miedzi i aminokwasów w surowicy, frakcjach białkowych surowicy i w moczu w stanach fizjologicznych i niektórych schorzeń.

2) określenie typu połączeń miedzi wydalanych w moczu na podstawie oznaczeń miedzi i aminokwasów, ewentualnie białek w moczu pierwotnym i po hydrolizie, w stanach fizjologicznych i w tych schorzeniach, dla których właściwa jest hiperkuperia.

3) wyjaśnienie mechanizmu wydalania miedzi w moczu na podstawie badań jej kompleksów z aminokwasami, w szczególności tymi, które występują głównie w moczu.

Do rozwiązania tych zagadnień niezbędne było udoskonalenie i przystosowanie do naszych warunków metodyki oznaczania miedzi i aminokwasów we krwi i w moczu.

Tematem naszej obecnej pracy jest:

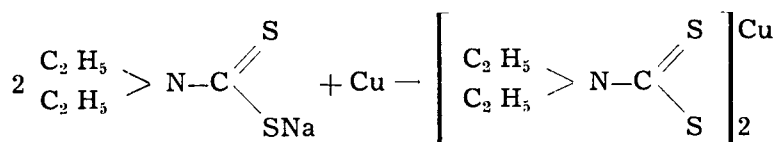
- a) porównanie dokładności i zakresu stosowalności, techniki oznaczania miedzi w fotometrze i spektrofotometrze,
- b) przystosowanie techniki fotometrycznej przy użyciu rurek absorpcyjnych do oznaczania miedzi w małych objętościach płynów ustrojowych, oraz
- c) oznaczenia miedzi w krwi pełnej, osoczu, surowicy, frakcjach białkowych surowicy i w moczu u ludzi zdrowych.

## BADANIA WŁASNE

### A. Metodyka oznaczania miedzi

Do oznaczeń miedzi zastosowano metodę Erdmanna-Millera i Hornbostela (15), przy wprowadzeniu pewnych nieznacznych modyfikacji. Autorzy wykorzystali dla celów ilościowego oznaczenia miedzi reakcję barwną między dwuetylodwutiokarbaminianem sodu a miedzią.

W środowisku alkalicznym przy pH około 10 tworzy się żółty barwnik wg wzoru:



#### Odczynniki:

1. Wzorcowy roztwór miedzi.

Odważa się 0.5018 g CuSO<sub>4</sub> p.a. świeżo po wyprażeniu, i rozpuszcza w 1 litrze wody podwójnie destylowanej. 1 ml wzorca macierzystego zawiera 200 μg Cu. Do oznaczeń stosuje się roztwory dziesięciokrotnie lub więcej rozcieńczone.

2. Cytrynian amonowy.

50 g kwasu cytrynowego rozpuszcza się w 100 ml amoniaku p.a. 25%.

3. Amoniak p.a. 25%.

4. Dwuetylodwutiokarbaminian sodowy 0,5% (przechowuje się w ciemnej flaszce, trwały do 2 tygodni)

5. Czterochlorek węgla świeżo destylowany w aparaturze szklanej.

6. Woda podwójnie destylowana w szklanej aparaturze.

#### Opis metody.

Do odmierzonych ilości roztworu wzorcowego siarczanu miedzi \*) rozcieńczonego w zależności od przewidywanego zakresu stężenia miedzi w badanych próbach, dodaje się 2 ml cytrynianu amonowego, 5 ml amoniaku, 2 ml dwuetylodwutiokarbaminianu sodowego, przenosi się mieszaninę ilościowo do rozdzielacza, dodaje 5 ml czterochorku węgla i wytrząsa 30 sekund. Po rozdzieleniu obu warstw przenosi się dolną warstwę zawierającą barwny kompleks miedzi rozpuszczony w czterochorku węgla do probówki objętości 10 ml, kalibrowanej, z korkiem szlifowanym. Po upływie 10 minut odczytuje się absorpcję w fotometrze lub spektrofotometrze. W taki sam sposób przeprowadza się oznaczenia w probówkach badanego materiału \*\*).

#### Sprawdzenie metody

- a) Czas ekstrakcji: próby o tej samej zawartości miedzi wytrząsano 30, 60 i 90 sekund. Absorpcja niezależnie od czasu wytrząsania była stale jednakowa.
- b) Ilość ekstrakcji: próby zawierające takie same ilości miedzi wytrząsano czterochorkiem węgla, jedno, dwu i trzykrotnie. Powtarzalność wyników uzyskano tylko przy jednorazowym wytrząsaniu \*\*\*).

\*) 1 ml, zakres stężeń miedzi 2—16 μg, fotometr lub spektrofotometr, grubość warstwy 1 cm.

1 ml, zakres stężeń miedzi 0,5—4 μg, fotometr, rurki absorpcyjne, grubość warstwy 5 cm.

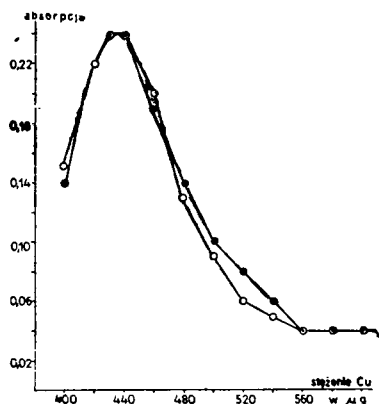
\*\*) Sposób przygotowania krwi i moczu do oznaczeń miedzi podano w części B.

\*\*\*) Wyniki pokrywają się z doświadczeniami Erdmanna-Millera.

## c) Trwałość kompleksu miedziowego.

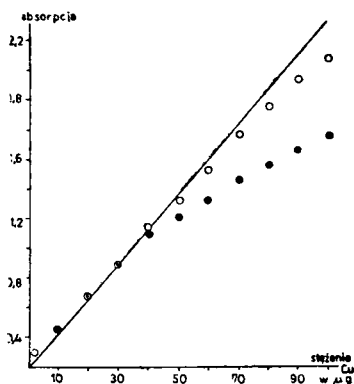
W próbach o tej samej zawartości miedzi oznaczano absorpcję po upływie czasu od 10 minut do 20 godzin. Do 3 godzin absorpcja pozostawała bez zmian. Po 20 godzinach natężenie barwy zmalało. Strata w przeliczeniu na miedź wyniosła około 10%.

d) Krzywe absorpcji (Ryc. 1) (Ryc. 2). Przystosowanie metody do oznaczeń miedzi w różnych zakresach stężeń i do niewielkich objętości badanych płynów ustrojowych.



Ryc. 1. Zależność absorpcji kompleksu miedziowego od długości fali światła.

Objaśnienia. ○○○○ — roztwór wzorcowy ( $10 \mu\text{g Cu}$ ), ●●●● — surowica krwi ( $10 \mu\text{g Cu}$ ), Spektrofotometr Unicam, Grubość warstwy roztworu 1 cm, Ekstrakcja 5 ml  $\text{CCl}_4$ .



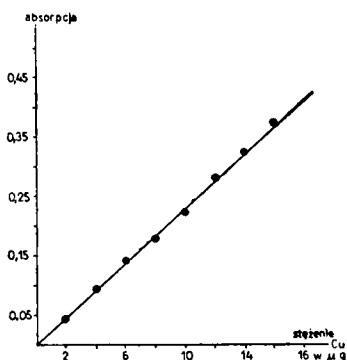
Rys. 2. Porównanie krzywych kalibracji w fotometrze i spektrofotometrze

Objaśnienia: ○○○○ — Fotometr Pulfricha, filtr S 47, ●●●● — Spektrofotometr Unicam, długość fali światła  $440 \text{ m}\mu$ , Grubość warstwy roztworu 1 cm, Ekstrakcja 5 ml  $\text{CCl}_4$ .

Tabela I

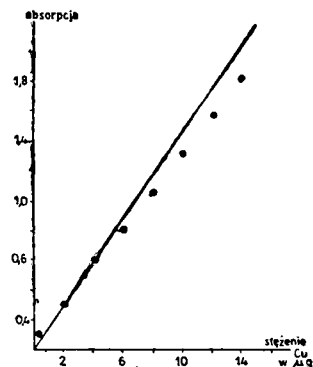
Błędy dla różnych zakresów stężenia miedzi przy oznaczaniu w fotometrze i spektrofotometrze

Przyrząd pomiarowy	Błąd % dla:			Błąd < 5,5%	
	2 $\mu\text{g Cu}$	40 $\mu\text{g Cu}$	80 $\mu\text{g Cu}$	od $\mu\text{g Cu}$	do
Fotometr	17	4	7,5	8	70
Spektrofotometr	5	5	27	1	40



Ryc. 3. Krzywa kalibracji w spektrofotometrze w zakresie stężeń od 2 do 14  $\mu\text{g Cu}$

Objaśnienia: Spektrofotometr Unicam, długość fali światła 440 m $\mu$ . Grubość warstwy roztworu 1 cm. Ekstrakcja 5 ml  $\text{CCl}_4$ .



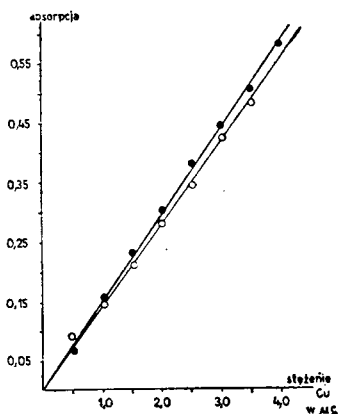
Ryc. 4. Krzywa kalibracji w fotometrze Pulfricha przy użyciu 5 ml warstwy roztworu

Objaśnienia: Fotometr Pulfricha filtr S 47, Rurki absorpcyjne warstwa 5 cm, pojemność 0,5 ml, Ekstrakcja 5 ml  $\text{CCl}_4$ .

Tabela II

Zestawienie błędów przy oznaczeniach miedzi w zakresie 0,5—6 $\mu$ g w fotometrze (rurka absorpcyjna — 5 cm)

$\mu$ g Cu	0,5	1	2	3	4	5	6
Błąd %	25	5	2,5	3,5	2,5	2	9



Ryc. 5. Porównanie krzywych kalibracji dla surowicy i moczu w zakresie stężeń 0,5—4  $\mu$ g Cu

Objaśnienia: ○○○○ — krzywa kalibracji dla surowicy krwi (1 ml), ●●●● — krzywa kalibracji dla moczu (20 cm), Rurka absorpcyjna, grubość warstwy 5 cm pojemność 0,5 ml, Ekstrakcja 5 ml  $\text{CCl}_4$ .

Oznaczenie miedzi przeprowadzano: w pełnej krwi, osoczu, surowicy (globuliny + albuminy), w frakcji globulinowej. Miedź w frakcji albuminowej otrzymywano z różnicy:

$$\text{Cu}_{\text{glob.}+\text{alb.}} - \text{Cu}_{\text{glob.}} = \text{Cu}_{\text{alb.}}$$

Przygotowanie materiału do oznaczenia miedzi.

Próby krwi pobierano wyłącznie strzykawką luerowską. Przy oznaczeniach miedzi w krwi pełnej i osoczu dodawano heparyny (1 kropla na 1 ml). Po dwu godzinach od pobrania, próby krwi odwirowywano. Białka surowicy strącano alkoholem absolutnym w stosunku 2:1. Po kilkunastu godzinach odwirowywano strątek białek.

Osad białkowy przenoszono ilościowo do kjeldahłowskiej kolby i poddawano spalaniu. Próby na obecność miedzi w przesączu alkoholowym wypadały zawsze ujemnie, co potwierdziło poglądy, że miedź występuje we krwi wyłącznie w połączeniu z białkami.

W celu oznaczania miedzi w frakcji globulinowej zadawano surowicę nasyconym roztworem siarczanu amonowego p.a. w stosunku 1:1 przy  $\text{pH} = 7$ . Próbę pozostawiano na kilka godzin w chłodni, w temperaturze  $4^\circ$  potem odwirowywano i poddawano spalaniu.

Spalanie: próby krwi, osocza, surowicy, strąty białkowe odparowywano z stężonym kwasem azotowym aż do wyjaśnienia cieczy, dodawano do pozostałości mieszaninę utleniającą ( $\text{HNO}_3$  stęż. +  $\text{H}_2\text{SO}_4$  stęż. +  $\text{HClO}_4$  stęż. w stosunku 1:1:1) i ogrzewano do całkowitego wyjaśnienia cieczy i białych dymów. Po oziębieniu rozcieńczano pozostałość 2 ml wody podwójnie destylowanej i dodawano odczynniki w takiej kolejności i w tym samym stosunku jak w roztworze wzorcowym. Dla każdej serii oznaczeń przeprowadzano ślepe próby z odczynniki.

Pomiary absorpcji przeprowadzano tak jak z roztworem wzorcowym w spektrofotometrze, fotometrze Pulfricha (kuwety — grubość warstwy 1 cm), (rurki absorpcyjne — grubość warstwy 5 cm). Do oznaczeń miedzi w moczu zadawano 20 ml moczu stęż. kwasem azotowym (2 ml) i odparowywano do objętości 2 ml. Pozostałość traktowano 3 ml mieszaniny utleniającej podobnie jak we krwi. Pomiary absorpcji przeprowadzano w fotometrze Pulfricha przy zastosowaniu rurek absorpcyjnych (5 cm), tak, jak w płynie wzorcowym.

#### Sprawdzenie metody:

##### 1. Powtarzalność wyników:

- a) W 5 próbach tej samej surowicy oznaczono miedź. Otrzymano następujące wyniki: 143, 142, 143, 144, 143  $\mu\text{g}$  Cu/100 ml surowicy (średnio  $143 \pm 1$ ).
- b) W 8 próbach tego samego moczu oznaczono miedź. Otrzymano: 100, 105, 110, 113, 100, 110, 100, 105  $\mu\text{g}$  Cu/1000 ml moczu.
- c) W 4 próbach tej samej surowicy i jej frakcji globulinowej oznaczono miedź:  
 Surowica: 68, 70, 65, 68,  $\mu\text{g}$  Cu/100 ml, średnio;  $105 \pm 8$   
 Globuliny: 65, 68, 60, 62  $\mu\text{g}$  Cu/100 ml, średnio;  $64 \pm 4$ .

##### 2. Odzyskiwanie dodawanej miedzi do surowicy (Tab. III) i do moczu (Tab. IV).

Rozrzut miedzi we krwi, osoczu, surowicy, frakcjach białkowych i moczu u ludzi zdrowych.

Pełna krew: 105, 105, 132, 105, 79, 95, 79, 95, 79, 66, 145, 132, 104  $\mu\text{g}$  Cu/100 ml; średnio: 104, rozrzut; 79—145.

Osocze: 171, 158, 211, 79, 105, 92, 105, 185, 185, 185, 153  $\mu\text{g}$  Cu/100 ml średnio: 153, rozrzut: 79—211.

Surowica: 155, 147, 112, 120, 125, 160, 125, 170, 155, 165  $\mu\text{g}$  Cu/100 ml średnio: 143, rozrzut: 112—170.

Mocz: 70, 52, 100, 75, 135, 85, 35, 105, 52, 150, 95, 62, 125, 52  $\mu\text{g}$  Cu/100 ml, średnio: 93, rozrzut: 35—185.

Zawartość miedzi w surowicy i białkach surowicy u ludzi zdrowych (Tab. V).

Tabela III  
Odzyskiwanie miedzi dodanej do surowicy

Surowica Cu μg/100 ml	Dodano Cu μg/100 ml	Surowica + Cu Cu μg/100 ml	Cu % odzyskania
190	50	232	84
190	50	238	92
200	100	289	89
169	100	256	87
169	100	270	102
178	150	326	99
178	150	320	101
178	150	324	97
140	200	352	106
140	200	345	103
			96 % średnio

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Kolorymetryczna metoda oznaczenia miedzi pod postacią barwnego kompleksu z dwuetylodwutiokarbaminianem sodu stosowana jest przez większość autorów zajmujących się zagadnieniem gospodarki miedziowej w ustroju. Metoda ta w modyfikacji Erdmanna-Millera (15) stosowana przez autorów do oznaczeń miedzi w moczu okazała się przydatna i dla celów oznaczania miedzi we krwi, surowicy i frakcjach białkowych. Ponieważ dwuetylodwutiokarbaminian sodowy daje również i z żelazem brunatne kompleksowe związki, dlatego usunięcie żelaza z badanej na miedź próby jest koniecznym warunkiem dokładności metody. Do usuwania żelaza stosuje się pyrofosforan sodowy, albo cytrynian amonowy. Dodanie wystarczającej ilości cytrynianu amonowego przy pH około 10 eliminuje całkowicie wpływ żelaza, jak to wykazały nasze badania.



W naszej modyfikacji stosowano do ekstrakcji barwnego kompleksu, zamiast alkoholu amyłowego, czterochlorek węgla świeżo przedestylowany. Badania wstępne wykazały, że czas wytrząsania 30 sekund jest wystarczający i tylko jednorazowe wytrząsanie daje wyniki powtarzalne. Metodyczne próby wykazały również, że zabarwienie kompleksu po trzech godzinach maleje, a po upływie 20 godzin strata wynosi około 10%.

Ponieważ przy oznaczeniach miedzi we krwi, surowicy, frakcjach biał-

Tabela IV  
Odzyskiwanie miedzi dodanej do moczu

Mocz Cu μg/1000 ml	Dodano Cu μg/1000 ml	Mocz + Cu Cu μg/1000 ml	Cu % odzyskania
52	50	92	84
52	50	95	90
52	50	95	90
52	100	145	93
52	100	142	90
52	100	150	98
52	150	192	93
52	150	195	95
52	150	192	93
			92 % średnio

kowych surowicy, moczu u ludzi zdrowych i w niektórych schorzeniach zakres stężeń miedzi może wahać się w szerokich stosunkowo granicach, należało dostosować wybór aparatury pomiarowej do różnych ilości miedzi. Wstępne porównawcze oznaczenia absorpcji we wzorcowych roztworach miedzi przeprowadzane równolegle w fotometrze i spektrofotometrze (warstwa 1 cm) wykazały, że w granicach stężenia miedzi od 10 do 40 μg w próbce błąd nie jest większy od 5%. Ale dla oznaczeń stężeń miedzi poniżej 10 μg nadaje się lepiej spektrofotometr, a dla stężeń powy-

żej 40  $\mu\text{g}$  fotometr. (Ryc. 2). Uwzględniając zakres stężenia miedzi we krwi około 100  $\mu\text{g}/\%$ , a w moczu około 50  $\mu\text{g}$  w litrze, należałoby pobierać do jednorazowego oznaczenia około 100 ml moczu i 40 ml krwi. W badaniach seryjnych operowanie tak znacznymi objętościami krwi i moczu nastrocza pewne trudności. Zastosowanie do fotometru w miejsce kuwet, rurek absorpcyjnych z warstwą 5 cm, pozwala zmniejszyć objętość moczu potrzebną do oznaczeń do 20 ml, a surowicy do 1—2 ml.

Tabela V

Zawartość miedzi w surowicy i białkach surowicy u ludzi zdrowych

Surowica Cu $\mu\text{g}/100$ ml	Białka surowicy Cu $\mu\text{g}/100$ ml	Globuliny surowicy Cu $\mu\text{g}/100$ ml	Albuminy surowicy Cu $\mu\text{g}/100$ ml*
170	175	165	10
124	136	112	24
148	174	162	12
112	126	110	16
174	162	136	26
160	174	136	38
146	147	148	0
136	147	122	25
124	148	108	40
186	175	165	10
Średnio: 148	156	136	20
Rozrzut: 112—186	126—175	108—165	0—40

\*) Oznaczenia przeprowadzono w 5 ml surowicy przy stosowaniu spektrofotometru (440 m $\mu$ ).

Ilości czterochlorku węgla stosowane do ekstrakcji można zmieniać w badanej próbie w zależności od stężenia miedzi. Przy stosowaniu rurek absorpcyjnych z warstwą 5 cm najmniejsza objętość czterochlorku węgla stosowana do ekstrakcji wynosiła 2 ml.

Odnosnie sposobu przygotowania materiału biologicznego do oznaczenia miedzi panowały różne poglądy. Część autorów przeprowadzała oznaczenia miedzi w popiele po spalaniu substancji organicznej na mokro (15) lub na sucho (20, 35). Inni oznaczali miedź w surowicy bezpośrednio bez uprzedniego spalania na drodze hydrolizy i ekstrakcji. Do ekstrakcji stosowali bądź kwas trójchlorooctowy (41, 9) lub alkohol izoamyłowy (34). W naszych badaniach stosowaliśmy wyłącznie spalanie na mokro i ekstrakcję czterochlorkiem węgla. Technika suchego spalania w piecu muflowym dawała wg nas znaczne błędy. Do mokrego spalania stosowano mieszanek kwasów siarkowego, azotowego i nadchlorowego według Erdmanna - Millera (15). Zarówno samo spalanie, jak i technika ekstrakcji i oznaczenia, wymagały ze względu na nieznaczne zawartości miedzi wielu ostrożności i zabezpieczenia przed zanieczyszczeniami miedzią z zewnątrz. Sprawdzianem dokładności stosowanej przez nas metody jest odzyskiwanie miedzi dodawanej do surowicy w 96% średnio, a dodawanej do moczu w 92%. Robinson odzyskuje miedź dodaną do surowicy średnio w 98%. (34).

Wyniki naszych oznaczeń miedzi zarówno w surowicy jak i w moczu mieszczą się w zakresie stężeń znajdujących przez innych autorów. Przegląd danych liczbowych wg różnych autorów (Tab. VI) dla zawartości miedzi w surowicy i w moczu wskazuje na znaczne odchylenia średniej zawartości, jak też i na znaczny rozrzut między najniższą a najwyższą wartością u poszczególnych autorów. Na wyniki i różnice mogą jednak w pewnym stopniu wpływać stosowane przez poszczególnych autorów metody badań.

Najniższe wartości dla miedzi w surowicy u ludzi zdrowych otrzymywali Guillemeut (56—75  $\mu\text{g}/100$  oraz Warburg - Krebs (82  $\mu\text{g}/100$ ) po zastosowaniu suchego spalania. Również i Locke (27) otrzymywał niskie wyniki przy stosowaniu techniki bezpośredniej ekstrakcji kwasem trójchlorooctowym. Zarówno i nasze wyniki otrzymywane dla surowicy po mokrym spalaniu, jak i wyniki Robinsona i Cartwrighta bez spalania przy pomocy ekstrakcji kwasem trójchlorooctowym lub alkoholem izoamyłowym, wahały się w granicach 100—200  $\mu\text{g}/100$  ml. Najwyższe wartości w surowicy otrzymywał Tompsett (247  $\mu\text{g}/100$ ), który stosował technikę bezpośredniej ekstrakcji kwasem trójchlorooctowym.

Również i zawartości miedzi w moczu znajdujące przez różnych autorów nie były jednakowe. Np. Donner znajduje dla 24 godzinnego moczu aż 334  $\mu\text{g}$ , Babajew 190  $\mu\text{g}$ , a u wielu innych wartości średnie były znacznie niższe od 100  $\mu\text{g}$  na litr moczu. Średnia z naszych oznaczeń wyniosła 94  $\mu\text{g}$  na litr moczu.

Na podstawie naszych oznaczeń przypuszczamy, podobnie jak i inni autorzy, że poziom miedzi w surowicy u ludzi zdrowych waha się w gra-

Tabli  
Miedź we krwi i w moczu

Cu $\mu\text{g}\%$	Wyniki średnie	—	—	$96 \pm 13\text{m}$ $100 \pm 11\text{f}$	98	—	$96 \pm 13\text{m}$ $100 \pm 11\text{f}$
Krew	Rozrzut	$70-117\text{m}$ $69-117\text{f}$	62—124	—	69—117	$76-117\text{m}$ $69-117\text{f}$	—
Pełna	Autorzy	(25)	(1)	(26)	(26a)	(19)	(43)
Cu $\mu\text{g}\%$ Osocze	Wyniki średnie	124	—	200	200	—	—
	Rozrzut	—	33—63	—	—	$70-132\text{m}$ $78-124\text{f}$	$110 \pm 12\text{m}$ $123 \pm 16\text{f}$
	Autorzy	(42a)	(36)	(28)	(41)	(37a)	(33)
Cu $\mu\text{g}\%$ Surowi- ca	Wyniki średnie	119	145	139	—	119	—
	Rozrzut	112—125	68—200	94—208	120—210	94—157	86—161
	Autorzy	(34)	(34)	(9)	(1)	(21)	(45a)
Cu $\mu\text{g}\%$ Globu- liny	Wyniki średnie	110—4	$103 \pm 11$	—			
	Rozrzut	84—138	88—114	$98,98$ $96,58$	całk. Cu su- rowicy		
	Autorzy	(21)	(31)	(26)			
Cu $\mu\text{g}/$ 1000 ml Mocz	Wyniki średnie	24 h 700	—	24 h 35	—	$48 \pm 16$	$24\text{h}$ $332 \pm 4,7\text{m}$ $336 \pm 4,4\text{f}$
	Rozrzut	—	80—480	—	0—69	—	—
	Autorzy	(35)	(41)	(30)	(45a)	(4)	(13)
Cu % odzysk.	Wyniki średnie	Sur. 98	Sur. 97	Sur. 100.1			
Odzyski- wanie dodane- go Cu	Rozrzut	92—106	—	—			
	Autorzy	(34)	(9)	(12)			

m — mężczyźni; f — kobiety;

ca VI

wg różnych autorów

							104
							79—145
							*)
—	—	110±16 m 122±29 f	109	—	105±16 116±16	101,4±18,5 m 116,6±19,8 f	153
92—134 m 103—159 f	68—134 m 84—143 f	—	68—143	68—134 m 84—143 f	—	—	79—211
(8)	(25)	(26)	(26a)	(19)	(43)	(13)	*)
—	—	—	82	108±9	108±9	—	148
72—95	183—245	56—75	—	82—132	—	84—137	119—186
(27)	(41)	(20)	(42)	(37)	(4)	(44)	*)
							136
							108—165
							*)
—	100	109	24 h 190	5,7			• 93
10—68	—	68—143	—	—			35—185
(29)	(28)	(32)	(1)	(12)			*)
							96 % Sur.
							92% Mocz.
							*)

\*) — Opieńska, Sz waj, Pietrusiewicz.

nicach od 100 do 200  $\mu\text{g}/\%$ , przy czym wartość średnia nie przekracza 150  $\mu\text{g}/\%$ , a zawartość miedzi w moczu normalnym waha się w granicach od 30 do 100  $\mu\text{g}$  na litr.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Babajew A. Z.: *Biochimija*, 19, 528, 1954.
2. Bash J. A., Mahoney J. P., Gubler C. J., Cartwright G. E., Wintrobe M. M.: *J. Lab. Clin. Med.*, 47, 898, 1956.
3. Bearn A. G., Kunkel H. G.: *J. Clin. Investig.*, 31, 616, 1952.
4. Bearn A. G., Kunkel H. G.: *J. Clin. Investig.*, 33, 400, 1954.
5. Cartwright G. E.: *Copper Metabolism, A Symposium* Mc Elroy, B. Glass Baltimore 274, 1950.
6. Cartwright G. E., Godyes R. E., Sabler C. J., Daum J. R., Wintrobe M. M., Bean W. P.: *J. Clin. Investig.*, 33, 1487, 1954.
7. Cartwright G. E., Haguley C. M., Aschenbrucker, Fay H., Wintrobe M. M.: *Blood* 3, 501, 1948.
8. Cartwright G. E., Haguley C. M., Aschenbrucker, Fay H., Wintrobe M. M.: *Blood* 2, 111, 1947.
9. Cartwright G. E., Jones P. J., Wintrobe M. M.: *J. Biol. Chem.*, 160, 593, 1945.
10. Clarkson T. W., Kench J. E.: *Biochem. J.*, 62, 361, 1956.
11. Cummings S. N.: *Brain* 74, 10, 1951.
12. Donald M., Halbard E., Spettel C.: *Anal. Chem.*, 25, 8, 1953.
13. Donner L., Daum S.: *Časop. Lék. Českých*, 88, 950, 1949.
14. Eden A., Green H. H.: *Biochem. J.*, 34, 1202, 1940.
15. Erdmann-Müller G. J., Hornbostel H.: *Klin. Wechschr.*, 31, 110, 1953.
16. Fay H., Cartwright G. E., Wintrobe M. M.: *J. Clin. Investig.* 28, 487, 1948.
17. Gubler C. J., Lahey M. E., Brown D. M., Smith E. L., Cartwright G. E., Wintrobe M. M.: *Fed. Proc.*, 10, 356, 1951.
18. Gubler C. J., Lahey M. E.: *J. Biol. Chem.*, 196, 209, 1952.
19. Gubler C. J., Lahey M. E., Cartwright G. E., Wintrobe M. M.: *J. Clin. Investig.* XXXII, 405, 1953.
20. Guillement R., Schell C.: *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 107, 1006, 1931.
21. Holmberg C. G., Laurell C. B.: *Acta Chem. Scand.*, 1, 244, 1947.
22. Holmberg C. G., Laurell C. B.: *Acta Chem. Scand.*, 2, 550, 1948.
23. Holmberg C. G., Laurell C. B.: *Acta Chem. Scand.*, 5, 476, 1951.
24. Holmberg C. G., Laurell C. B.: *Acta Chem. Scand.*, 5, 921, 1951.
25. Lahey M. E., Gubler C. J., Cartwright G. E., Wintrobe M. M.: *J. Clin. Investig.*, 32, 329, 1953.
26. Lahey M. E., Gubler C. J., Cartwright G. E., Wintrobe M. M.: *J. Clin. Investig.*, 32, 322, 1953.
- 26a. Leverløn R. M., Binkley E. S.: *J. Nutrition*, 27, 43, 1944.
27. Locke A., Main E. R., Rostash D. O.: *J. Clin. Investig.*, 11, 527, 1932.
28. Mc Farlane: *Biochem. J.*, 26, 1022, 1932.
29. Mandelbrote B. M., Stanier U. W., Thompson R. H. S., Thruston U. N.: *Brain*, 71, 212, 1948.
30. Matthews W. B., Milne H. D., Bell M.: *Quart. J. Med.*, 84, 425, 1952.
31. Markowitz H., Gubler C. J., Mahoney J. P., Cartwright G. E., Wintrobe M. M.: *J. Clin. Investig.* 10, 1955.
32. Munch-Petersen S.: *Scand. J. Clin. Lab. Investig.*, 2, 48, 1950.
- 32a. Munch-Petersen S.: *Acta Med., Scand.*, 131, 588, 1948.
33. Nielsen A. L.: *Acta Med. Scand.*, 118, 87, 1944.
34. Robinson J. C.: *J. Biol. Chem.*, 179, 1103, 1957.
35. Rabinowitz J. M.: *J. Biol. Chem.*, 100, 479, 1933.
36. Sarata U.: *Biochem. Japan J. Med. S. C. Biochem.*, 3, 79, 1935.
37. Sachs A., Schmet A., Levine V. E., Hugles R.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 46, 192, 1941.
- 37a. Sachs A., Schmet A.,

Levine V. E., Hugles R.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 35, 6, 1936. 38. Scheinberg J. S., Gitlin D.: Science 116, 584, 1952. 39. Stein W. H., Bearn A. G., Moore S.: J. Clin. Investig., 33, 410, 1954. 40. Thompson R. H. S., Watson C.: J. Clin. Path., 2, 193, 1949. 41. Thomsett S. R.: Biochem. J., 28, 2088, 1934. 42. Warburg O., Krebs H. A.: Biochem. Zeitschr., 190, 143, 1927. 42a. Warburg O.: Biochem. Zeitschr., 187, 255, 1927. 43a. Wintrobe M. M., Cartwright G. E., Gubler C. J.: J. Nutrition, 50, 395, 1953. 44. Vallee B. L.: Scand. J. Clin. Lab. Investig. 2, 55, 1950. 45. Zimdahl W. T., Hyman J., Cook E. D.: Neurology, 3, 569, 1953. 45a. Zimdahl W. T., Hyman J., Stafford W. F., Buffalo N. Y.: J. Lab., Clin. Med., 43, 774, 1954.

---

## Р Е З Ю М Е

Производились определения меди в крови и моче у здоровых людей. Применялись мокрые окисления при употреблении смеси концентрированных кислот: азотной, серной и хлорной. Для определений меди был применен колориметрический метод Эрмманна — Миллера и Горнбостеля с натриевым двуэтил-двумиокарбаминианом. Обозначения адсорбции желтого медного комплекса производились сравнительно в фотометре (фильтр S 47) и спектрофотометре (длина волны света 440 мμ) для толщины слоя 1 см.

Применение для определений вместо кюветок абсорбционных трубок (толщина слоя 5 см) позволило определять медь в 10 — 20 мл мочи и 1 мл сыворотки с ошибкой ниже 5%.

На основании сопоставления результатов наших определений меди во всей крови, плазме, сыворотке, моче у здоровых людей с результатами других авторов, колеблющимися в сравнительно широких границах, автор устанавливает, что: уровень меди в сыворотке у здоровых людей колеблется в границах от 100 до 200 μg %, причем средняя величина не выше 150 μg %, а в моче колеблется в границах от 30 до 100 μg/1000 мл.

---

## S U M M A R Y

Copper was determined in blood and urine of healthy people. Wet combustion was applied, with the use of the mixture of concentrated nitric, sulphuric and perchloric acids. The Erdmann-Miller and Hornbostel colorimetric method with sodium diethyldithiocarbaminian was adapted to the determination of copper. Determination of the absorption of the yellow copper complex was carried out comparatively in a photometer (S. 47 philter) and in a spectrophotometer (light wavelength

440 m $\mu$ ) for a layer 1 cm thick. Introduction of absorption tubes (layer 5 cm thick) instead of cuvettes made it possible to determine copper in 10—20 ml of urine and 1 ml of blood serum with an error less than 5 per cent.

The author's results concerning determination of copper in complete blood, plasma, serum, protein precipitate of the serum, globulin fraction of the serum, and in urine of healthy people were compared with those of other authors, which show relatively great discrepancies. This comparison allows to assume that the copper level in the serum of healthy people oscillates between 100 and 200  $\mu\text{g}^0/\text{o}$ , the mean value not surpassing 150  $\mu\text{g}^0/\text{o}$ , the border values in urine are 30—100  $\mu\text{g}/1000$  ml.