

УДК 577.1:599.322

Шкумбатюк О.Й., к.вет.н., ст.викладач,**Шкумбатюк Р.С.**, к.х.н., ст.викладач,***Лозовицька Т.М.**, к.с.-г.н., ст.викладач,**Зубик С.В.**, к.т.н., ст.викладач. ©*Львівський національний аграрний університет**Ужгородський національний університет**

ЕКТОКСИЧНИЙ ТРИВАЛИЙ ВПЛИВ КАДМІЮ НА ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ У ЩУРІВ

В роботі подані результати досліджень тривалого впливу іонів кадмію на гематологічні показники у щурів. Встановлено, що іони кадмію в дозі 1/20 DL₅₀ знижують прирости живої маси тварин, зумовлюють посилену еритроцитопенію, лейкопенію при збільшеному вмісті гемоглобіну в еритроцитах. Отримані результати розкривають механізми екотоксичного впливу кадмію на живі організми.

Ключові слова: щурі, кров, еритроцити, лейкоцити, гемоглобін, кадмій, токсикоз.

Вступ. Серед пріоритетних забруднювачів біосфери, що потребують постійного контролю у довкіллі, програмою глобального моніторингу ООН визнаний кадмій. У біогеохімічні цикли щорічно надходить 2×10^3 т кадмію. Україна у 3,0-6,5 рази переважає США та розвинуті країни Європи за техногенним хімічним навантаженням. Основним джерелом поступлення металу в організм є харчові продукти та питна вода. Рівні надходження кадмію цими шляхами складають 10-30 мкг/добу [4].

Метою наших досліджень було з'ясувати особливості функціонування захисних механізмів організму тварин за умов довготривалого кадмієвого токсикозу.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проводили на 12 щурах-самцях лінії Вістар, масою 200 – 220 г, з яких було сформовано дві групи тварин: 1 — контрольна група (вводили питну воду через металевий зонд в об'ємі, який еквівалентний об'єму водного розчину хлориду кадмію); 2 — дослідна група (вводили 0,029 % водний розчин хлориду кадмію в дозі 4,4 мг/кг). Тварин утримували на стандартному раціоні віварію. Щурів декапітували на 30 – тий день під легким ефірним наркозом відбирали кров для подальших досліджень.

Підрахунок кількості еритроцитів та лейкоцитів проводили у камері Горєва. Концентрацію гемоглобіну в крові визначали гемоглобін-ціанідним методом, концентрацію загального білка в сироватці крові визначали біуретовою реакцією [1]. Середній об'єм еритроцитів розраховували шляхом

© Шкумбатюк О.Й., Шкумбатюк Р.С., Лозовицька Т.М., Зубик С.В., 2010

ділення гематокритної величини на загальну кількість еритроцитів у крові [2]. Статистичну обробку результатів проводили за методикою, описаною Ойвіним І.А. [3]. Вірогідність розходжень між показниками оцінювали за критеріями Стьюдента.

Результати досліджень. За даними різних авторів, у тварин хронічний токсикоз діагностувати важко. Одним із ранніх симптомів отруєння важкими металами є відмова тварин від корму, пригнічення та зниження маси тіла.

У результаті проведених досліджень у групах тварин, яким внутрішлунково вводили розчин хлориду кадмію, відмічали тенденцію до зниження приростів маси тіла щурів (рис. 1).

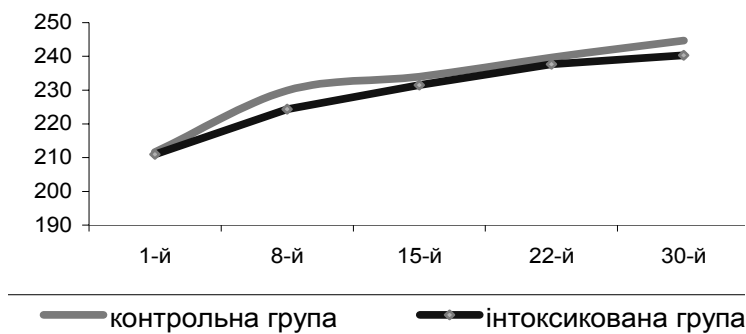


Рис. 1. Прирости маси тіла у щурів при тридцятидобовому кадмієвому токсикозі; 1 – контрольна група; 2 – група уражена кадмієм.

Зменшення приростів живої маси у щурів при дії іонів кадмію, супроводжувалися гіпо- та гіпертрофією внутрішніх органів, які характеризуються різною інтенсивністю метаболізму (табл. 1).

Таблиця 1

Коефіцієнти маси внутрішніх органів білих щурів на 30-ту добу після внутрішлункового введення хлориду кадмію ($M \pm m, n = 6$)

Внутрішні органи	Група тварин	
	I	II
Серце	3,442±0,137	3,125±0,124
Легені	7,632±0,697	7,817±0,939
Нирки обидві	6,483±0,072	6,347±0,337
Селезінка	4,108±0,352	4,035±0,086
Печінка	29,024±1,973	30,267±0,873
Головний мозок	5,895±0,584	6,984±0,428

При введенні солей кадмію спостерігали збільшення вагового коефіцієнту легенів (на 2,4 %), селезінки (на 2,9 %), печінки (на 4,3 %), головного мозку (на 18,0 %) та зменшення маси таких органів як нирки та серце відносно контролю.

Важкі метали володіють тропністю до еритроцитів та спорідненістю до гемоглобіну. При потраплянні в організм до 90 % іонів кадмію локалізується в еритроцитах, а потім перерозподіляється у інших біологічних тканинах.

У групі ураженій кадмієм спостерігали достовірне зменшення кількості еритроцитів – на 25,7 % ($p < 0,001$) в порівнянні із контрольною групою (рис. 2).

Компенсаторна реакція організму на посилену еритроцитопенію сприяла збільшенню гемоглобіну в крові дослідних груп щурів на 5 %, проте статистично-достовірних змін в порівнянні із контрольною групою не було відмічено (рис. 3).

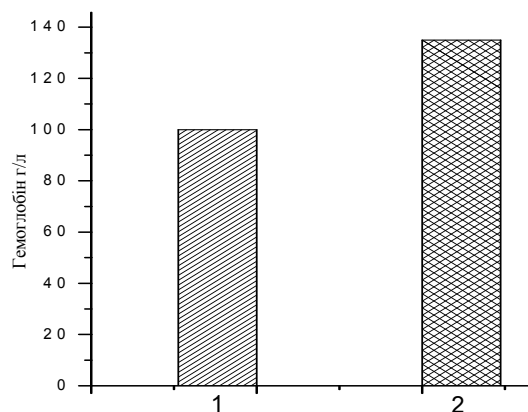
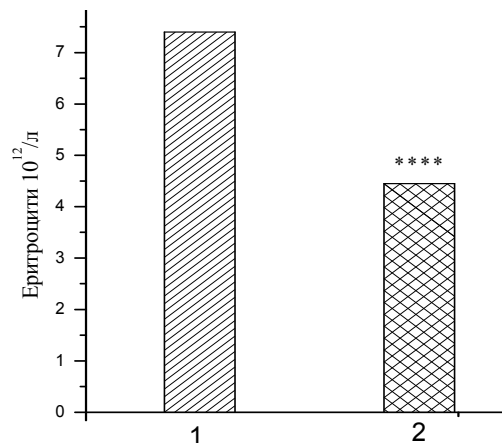


Рис. 2. Концентрація еритроцитів в крові тварин за хронічного кадмієвого токсикозу

Рис. 3. Концентрація гемоглобіну в крові тварин за хронічного кадмієвого токсикозу

Примітка. В цьому та наступних рисунках - 1 – контрольна група, 2 – інтоксикована кадмієм; * $p < 0,05$, ** $p < 0,025$, *** $p < 0,01$, **** $p < 0,001$.

Як бачимо з (рис. 4) гематокрит у тварин токсикованих іонами кадмію незначно змінювався, спостерігалась тенденція до зростання. Проте, достовірних змін не було відмічено.

Незначні зміни гематокриту при достовірному зменшенні кількості еритроцитів у крові уражених тварин кадмієм зумовлені збільшенням середнього об'єму еритроцитів та вмісту гемоглобіну в еритроциті.

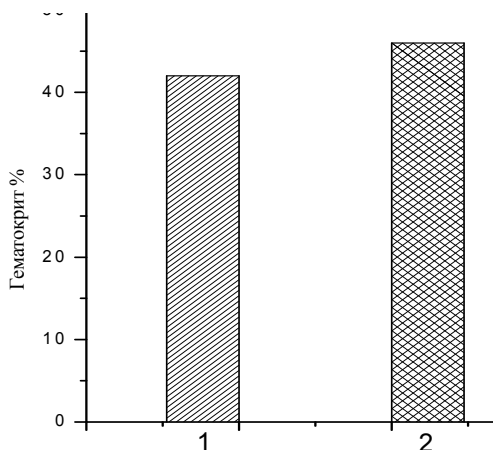


Рис. 4. Показники гематокриту у тварин на тридцять добу кадмієвого токсикозу

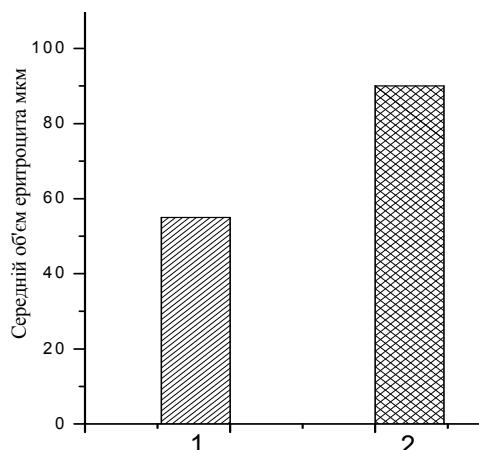


Рис. 5 Середній об'єм еритроцитів в крові тварин за хронічного кадмієвого токсикозу

Так середній об'єм еритроцита зріс на 38 %, а середній вміст гемоглобіну в еритроциті на 26 % (рис. 5-6).

Іони кадмію зумовлюють також зменшення кількості лейкоцитів у крові на 29,4 % (рис. 7), що свідчить про здатність іонів кадмію впливати на кровотворні органи.

Іони кадмію зумовлюють також зменшення кількості лейкоцитів у крові на 29,4 % (рис. 7), що свідчить про здатність іонів кадмію впливати на кровотворні органи.

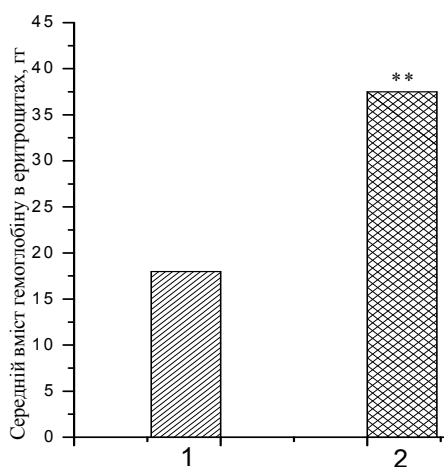


Рис. 6. Середній вміст гемоглобіну в еритроцитах тварин за хронічного кадмієвого токсикозу

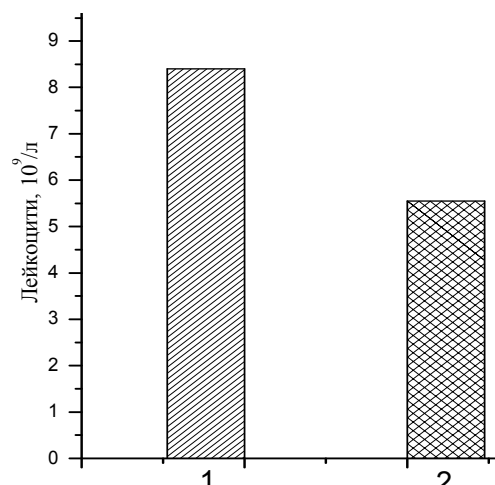


Рис. 7. Концентрація лейкоцитів в крові тварин за хронічного кадмієвого токсикозу

Висновки. 1. Тридцятидобовий кадмієвий токсикоз у щурів зменшує прирости маси тіла порівняно з інтактними тваринами.

2. Кадмієва інтоксикація тварин супроводжується збільшенням вагового коефіцієнту легенів (на 2,4 %), селезінки (на 2,9 %), печінки (на 4,3 %), головного мозку (на 18,0 %) та зменшення маси таких органів як нирки та серце відносно контролю.

3. У крові уражених кадмієм тварин спостерігали достовірне зменшення кількості еритроцитів – на 25,7 % ($p < 0,001$) та лейкоцитів на 29,4 % ($p < 0,025$) в порівнянні з контрольною групою.

4. Незначні зміни гематокриту при зменшенні кількості еритроцитів у крові уражених тварин кадмієм зумовлені збільшенням середнього об'єму еритроцитів на 38 % ($p < 0,001$) та вмісту гемоглобіну в еритроциті на 26 % ($p < 0,025$).

Література

1. Кондрахин И.П., Курилов Н.В., Малахов А.Г., и др. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии. - М.: Агропромиздат, 1985. -287 с.
2. Мельников В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. – М: Медицина, 1987. -365 с.
3. Ойвин И.А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // Патологическая физиология и экспериментальные исследования. Терапия. – 1960. - №4. – С. 76-79.
4. Шевчук Ю.Д., Шевчук С.М., Свідерко Б.Д. До питання екологічної ситуації при техногенному навантаженні в умовах Львівської області // Вісник аграрної науки. – 2001. - № 7. – С. 112-114. (4)
5. Mekail Ali, Chrascina Malgorzata. Effects of cervital on cadmium and lead indreced changes in the activity of eritrocyte superoxide dismutase, haemoglobin, value and metal oncentration in the blood // Veterinary Record.– 1998.– 112(13).– P. 343-349.

Summary

O.J. Shkumbatuk, R.S. Shkumbatuk*, T.M. Lozovytska, S. V. Zubyk

*Lviv National Agrarian University, *Uzhgorod National University*

HEMATOLOGICAL PARAMETERS AT ECOTOXICAL CHRONIC CADMIUM INFLUENCE AT RATS

This paper presents the results of studying of the effect of Cd^{2+} ions on hematological parameters at rats. It was established that ions cadmium in dose 1/20 DL_{50} decrease animal mass, enhance an erythrocytopenia and a leukopenia while haemoglobin content is enlarged in erythrocytes. Obtained results revealed mechanisms of ecotoxical cadmium influence on animals.

Key words: rats, a blood, erythrocytes, leucocytes, a haemoglobin, cadmium, a toxicosis.

Стаття надійшла до редакції 9.09.2010

Agnieszka Kurosad, Paweł Jonkisz®

Department of Internal Disease with Clinic for Horses, Dogs and Cats, Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University of Environmental and Life Science, Poland

ESTIMATION OF INFLUENCE THE SHORT-TIME FEEDING OF THE PROTEIN HYDROLYSATE ON MORPHOLOGY AND CHOSEN BIOCHEMICAL PARAMETERS IN TWO YOUNG GERMAN SHEPHERD DOGS

Abstrakt. *Protein hydrolysates become more popular in human and animals nutrition. The article presents the six-weeks lasting experiment conducted on two young German Shepherd Dog which were fed protein hydrolysates. Morphology and chosen biochemical parameters and body weigh were monitored during that experiment.*

Key words: *protein hydrolysates, dogs, nutrition*

Introduction

Protein hydrolysates are produced by heating purifying protein in acids or proteolytic enzymes presence. Each of hydrolysates are the mixture of various peptides of various length- chains and free amino-acids. Hydrolysates are usually used in human industry for food production and also in animals nutrition, especially in feeding of ill animals. Hydrolysis improve the digestibility and absorption of protein from gastrointestinal tract and improve the usage of food protein by organism. Steinhardt et all shown that giving the protein hydrolysates to the patients with pancreas insufficiency eliminate the necessity of giving high-protein diets. It is known that di- and tri-peptides are absorbed better from alimentary tract than non-hydrolysed protein. In human patients that obtained hydrolysed casein the amino-acid content was higher than in patients that were fed non-hydrolysed casein. In human nutrition protein hydrolysates are used in patients with digestion and absorption disorders, allergies, pancreatitis, ect. Protein hydrolysates are used as the main element of the mixture for force feeding. And they are also used in sportsmen to improve the protein usage and increase the amino-acids level in blood serum.

In animals feeding protein hydrolysates are used as a source of protein in hypo-allergenic diets. They are also used in diet - therapy of gastrointestinal disorders coming with chronic vomiting and diarrhoea and in animals with hypoalbuminaemia. That hydrolysate was used in one cat with hypoalbuminaemia, increase the level of albumin and improve the life quality of that animal. Hydrolysates may be used in dogs with pancreas insufficiency because of theirs simply structure and high digestibility. Nowadays in pancreas insufficiency we recommend high digestibility diets with reduced amount of fat and moderate level of protein. And because German Shepherd Dog are predisposed to gastrointestinal disorders, pancreas insufficiency we chose two young German Shepherd Dogs for our short-time experiment.

© Agnieszka Kurosad, Paweł Jonkisz, 2010

The aim of the experiment

The aim of the experiment was the estimation of influence of the protein hydrolysates on morphology and chosen biochemical parameters of growing German Shepherd Dogs that are in the risk group of gastrointestinal tract diseases and pancreas insufficiency.

Material and methods

Two young healthy German Shepherd Dog was taken into short-time experiment. For six weeks, two six-months old dogs were fed by standard commercial dry food for young dogs supplemented by protein hydrolysate – Vetfood BB & Recovery Balance and every week blood samples were taken. Additionally body weighs were weakly monitored. Morphological (WBC, RBC, HGB, HCT, PLT, LYM, MON, GRA) and chosen parameters of biochemical analysis (protein, albumin, creatinine) was done. Activity of liver enzymes (ALAT and ASPAT) in blood serum were measured twice: on the first and end - day of experiment. Analysis was done on apparatus: Kone Lab Prime i30.

Standard commercial food for young dogs contains: 30% of protein, 18% of fat, 8% of ash, 2% of fibre, 377kcal ME/100g of food. Vetfood BB & Recovery Balance for dogs contains: 50% of protein, 37% of fat, 11% of ash, 1% of fibre. The amino-acids content in 1 kg of powder is: arginine: 10g, glutamine: 10g, glycine: 10g, leucine: 10g, iso-leucine: 5g, valine: 5g, creatine: 10g, taurine: 10g. The full content of Vetfood BB & Recovery for dogs was shown in tab.1. Dogs were given 40g of Vetfood BB & Recovery Balance every day for six weeks. Every week the body weight and blood sample were taken for analysis.

Results and discussion

Dogs obtained daily 168 and 180g of protein from standard commercial pet-food, respectively and additionally: 24,8g of protein from hydrolysate: Vetfood BB & Recovery Balance. All the result of blood and body weight analysis were given in tables below (tab. No: 2, 3, 4). All morphological and chosen biochemical results were within reference range.

There were no significant difference in morphological parameters and chosen biochemical dates: protein, albumin and creatinine level in serum and ALAT and ASPAT activity during Vetfood BB & Recovery Balance feeding. Probably it comes out of proper amino-acid balance in those two young dogs. But it requires further and more details examinations.

Amino-acids are absorbed from alimentary tract. The part of them are used directly for regeneration of mucosal membrane of intestines and most of them are coming to the liver. Liver is the main organ that take part in synthesis of endogenous amino-acids (glycine, serine, alanine, ect). Also the degeneration process of amino-acids that are in excess in blood are took place in liver. So the liver is the main organ that regulates protein metabolism. Kidneys are the second important organs that protect against loss of free amino-acids from organism. They are tickered in renal glomeruli and turned back into the circulation. So the level of free amino-acids are very low in urine. And it increases when exceed the renal threshold which is various for various amino-acids. Proteins are not accumulated in organism, but the muscles

could be a transient reservoir of amino-acids. In young animals the protein is mainly used for lean body mass building.

The conclusion of that experiment is: in those two young and healthy German Shepherd Dogs there is a very good functioning mechanisms of homoeostasis and the protein is mainly used for growth (lean body mass building), so significant differences in morphological and chosen biochemical parameters may not be observed. But that theme requires more specific and precise research.

Tables

Tab 1. Content of given protein hydrolysate, named: Vetfood BB & Recovery Balance

No	Nutrient	Content of nutrient (g) in 1000g of BB & Recovery Balance
1	arginine	10
2	glutamine	10
3	glycine	10
4	leucine	10
5	isoleucine	5
6	valine	5
7	creatine	10
8	taurine	10
9	L-carnitine	10
10	D-rybose	10
11	lecithin	10
12	MCT	10
13	Chicken fat	235
14	HMB	10
15	beta-alanine	10
16	beta-glucan	1
17	Alfa-liponic acid	3.8
18	Hypoallergenic chicken protein hydrolysate	550
19	glucosamine	10
20	chondroitin	5
21	Hyaluronic acid	0.5
22	Vitamin Complex	
23	Mineral Complex	
24	EnzymeShot	

Tab. 2. Morphological parameters in two German Shepherd Dogs (“a” - dog no 1; “b” - dog no 2)

Date of blood checkup	Id of animal and no of blood checkup	WBCN (10 ⁹ /l)	RBC (10 ¹² /l)	HGB mmol/l	HCT (l/l)	PLT (10 ⁷ /l)	LYM (%)	MON (%)	GRA (%)
20/05/10	1a	10.3	6.46	8.6	0.42	298	22	5.8	72.2
27/05/10	2a	9.4	6.64	9.1	0.43	373	23.3	6.7	70
03/06/10	3a	10.8	6.67	9.2	0.43	319	24.2	5.1	70.7
10/06/10	4a	11.1	6.23	8.5	0.4	304	17.6	4.3	78.1
17/06/10	5a	11.3	6.18	8	0.4	293	17.2	4.7	78.1
24/06/10	6a	9.4	5.79	7.8	0.37	330	20.7	5.1	74.2
20/05/10	1b	13.6	6.27	8.4	0.41	269	28.9	6.5	64.6
27/05/10	2b	12.4	6.07	8.3	0.39	356	24.3	5.7	70
03/06/10	3b	14.2	6.3	8.7	0.41	308	24.7	5	70.3
10/06/10	4b	12.8	6.13	8.4	0.4	247	21.8	4.9	73.3
17/06/10	5b	16.4	6.45	8.4	0.42	297	15	4.3	80.4
24/06/10	6b	12.9	5.87	7.7	0.38	260	16.9	4.5	78.6

Tab. 3. Chosen biochemical parameters in two German Shepherd Dogs (“a” - dog no 1; “b” - dog no 2)

Date of blood checkup	Id of animal and no of blood checkup	ALAT (U/l)	ASPAT (U/l)	Protein (g/l)	Albumin (g/l)	Creatinine (μmol/l)
20/05/10	1a	46	24	51	28	71
27/05/10	2a	-	-	50	28	59
03/06/10	3a	-	-	45	29	63
10/06/10	4a	-	-	50	28	62
17/06/10	5a	-	-	45	26	59
24/06/10	6a	47	25	47	27	60
20/05/10	1b	46	25	53	29	69
27/05/10	2b	-	-	51	29	65
03/06/10	3b	-	-	48	28	64
10/06/10	4b	-	-	50	28	67
17/06/10	5b	-	-	50	27	63
24/06/10	6b	46	26	50	27	65

Tab.4. Weekly measured body weight of German Shepherd Dogs ("a" - dog no 1; "b" - dog no 2)

Lp.	Date	Body weight of dog „a” (kg)	Body weight of dog „b” (kg)
1	20/05/10	20.8	21.6
2	27/05/10	21.1	22.1
3	03/06/10	20.3	22.4
4	10/06/10	21.2	22.7
5	17/06/10	21.2	24.3
6	24/06/10	23.2	24.3

References:

1.Folador J.F. et al.: Fish meals, fish components and fish protein hydrolysates as potential ingredients in pet foods. J. Am. Sci. 2006,84, 2752-2765

2.Guilford W.G. et al.: Food sensitivity in cats with chronic idiopathic gastrointestinal problems. J. Vet. Inter. Med. 2001,15 (1), 7-13

3.Jank M.: Hydrolizaty białka w żywieniu małych zwierząt. Magazyn wet. 2010,160(19), 974-976

4.Kungl K. et al.: Niepożądane reakcje na niektóre składniki pokarmowe, występujące w żywieniu dla psów i kotów. Medycyna Wet. 2007,63 (1), 37-40

5.Ludow C.L. et al.: Hydrolyzed protein: what, when and why. The North American Veterinary Conference, 8-12.01,2005., Orlando, USA

6.Steinhardt H.J et al.: Nitrogen absorption in pancreatectomized patient : protein versus protein hydrolysate as substrate. J. Lab. Clin. Med. 1989,113 (2), 167-24

Summary

Agnieszka Kurosad A., Paweł Jonkisz P.

Department of Internal Disease with Clinic for Horses, Dogs and Cats, Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University of Environmental and Life Science, Poland

ESTIMATION OF INFLUENCE THE SHORT-TIME FEEDING OF THE PROTEIN HYDROLYSATE ON MORPHOLOGY AND CHOSEN BIOCHEMICAL PARAMETERS IN TWO YOUNG GERMAN SHEPHERD DOGS

The article presents the six-weeks lasting experiment conducted on two young German Shepherd Dog which were fed protein hydrolysates. Morphological and chosen biochemical parameters were estimated weekly, but no significant changes were observed during the protein hydrolysate feeding.

Стаття надійшла до редакції 9.09.2010