

The concentration of cadmium in organs of cows after experimental Load by cadmium sulphate

Koncentrace kadmia v orgánech krav po jeho dlouhodobém experimentálním podávání

J. Zajíc, R. Vitásek

Clinic of Obstetrics, Gynaecology and Andrology, University of Veterinary and Pharmaceutical Science, Brno, Czech Republic

ABSTRACT

The concentration of cadmium in various organs of cows after long-term consumption of cadmium sulfate was investigated. Experimental animals (6 pregnant cows, from 4 to 8 years) were in course pregnancy and after parturition fed separately with concentrates supplemented by cadmium sulphate in daily dosage 250 mg Cd pro toto (2 animals) and 500 mg Cd pro toto (4 animals). Cadmium was administered from 203 to 328 days in three cows (one cow 250 mg Cd + two cows 500 mg Cd) and these cows were slaughtered at the end of Cd administration (group I - E1). In three cows (one cow 250 mg Cd + two cows 500 mg Cd) cadmium was administered for 68 to 138 days and administration of cadmium was stopped from 24 to 135 days before slaughter (group I - E2). Control animals (4 cows) were fed with analogous diets which were not supplemented by cadmium (group II - C). All the animals were slaughtered and samples from hepar, kidney, muscle, ovary and uterus were collected for the determination of cadmium using the atom absorption spectrophotometry. The following mean concentrations of cadmium (\pm SD), expressed in $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ of fresh tissue, were found (group I - E1; group I - E2; group II - C): kidney (17.80 ± 1.21 ; 6.87 ± 1.46 ; 0.45 ± 0.16) the differences in concentrations between E1 : E2 are $p < 0.01$; E1 : C $p < 0.01$; E2 : C $p < 0.01$), liver (6.74 ± 2.01 ; 2.67 ± 0.80 ; 0.27 ± 0.11) (E1 : E2 $p < 0.05$; E1 : C $p < 0.01$; E2 : C $p < 0.05$), uterus (0.450 ± 0.134 ; 0.291 ± 0.217 ; 0.028 ± 0.019) (E1 : E2 $p > 0.1$; E1 : C $p < 0.05$; E2 : C $p > 0.1$), ovary (0.119 ± 0.045 ; 0.086 ± 0.087 ; 0.028 ± 0.017) (E1 : E2 $p > 0.1$; E1 : C $p < 0.05$; E2 : C $p > 0.1$), muscle (0.059 ± 0.014 ; 0.022 ± 0.004 ; 0.028 ± 0.024) (E1 : E2 $p > 0.1$; E1 : C $p > 0.1$; E2 : C $p > 0.1$).

Cattle; liver; kidney; muscle; uterus; ovary

ABSTRAKT:

Cílem sledování bylo zjistit obsah kadmia ve tkáních a orgánech krav po experimentální zátěži kadmíem. U 6 březích krav českého strakatého plemene a jeho kříženců, ve stáří 4 až 8 let, bylo během gravidity a po porodu individuálně podáváno jádro s přídatkem síranu kademnatého v denní dávce 250 mg Cd (2 zvířata) nebo 500 mg Cd (4 zvířata) pro toto. U tří krav byla celková doba podávání kadmia 203 až 328 dní (1 kráva dostávala 250 mg Cd + 2 krávy 500 mg Cd) a kadmium se podávalo až do porážky. U tří zvířat byla celková doba zátěže kadmíem 68 až 138 dní (1 kráva dostávala 250 mg Cd + 2 krávy 500 mg Cd) s vysazením kadmia v období 24 až 135 dnů před porážkou. Kontrolní skupinu tvořily 4 krávy bez přídatku Cd v jádru. Po odporažení byly odebrány vzorky jater, ledvin, svalstva, dělohy a vaječníků. V jednotlivých tkáních byl stanoven obsah kadmia metodou atomové absorpční spektrofotometrie. V jednotlivých tkáních byly zjištěny následující průměrné koncentrace kadmia v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (podle skupin - E1 -

podávání Cd až do porážky; E2 - vysazeno podávání Cd; C -kontrolní): ledviny ($17,80 \pm 1,21$; $6,87 \pm 1,46$; $0,45 \pm 0,16$) statistická významnost (E1 : E2 $p < 0,01$; E1 : C $p < 0,01$; E2 : C $p < 0,01$), játra ($6,74 \pm 2,01$; $2,67 \pm 0,80$; $0,27 \pm 0,11$) (E1 : E2 $p < 0,05$; E1 : C $p < 0,01$; E2 : C $p < 0,05$), děloha ($0,450 \pm 0,134$; $0,291 \pm 0,217$; $0,028 \pm 0,019$) (E1 : E2 $p > 0,1$; E1 : C $p < 0,05$; E2 : C $p > 0,1$), ovária ($0,119 \pm 0,045$; $0,086 \pm 0,087$; $0,028 \pm 0,017$) (E1 : E2 $p > 0,1$; E1 : C $p < 0,05$; E2 : C $p > 0,1$), svalovina ($0,059 \pm 0,014$; $0,022 \pm 0,004$; $0,028 \pm 0,024$) (E1 : E2 $p > 0,1$; E1 : C $p > 0,1$; E2 : C $p > 0,1$).

Kadmium; skot; síran kademnatý; játra; ledviny; svalovina; děloha; vaječníky

ÚVOD

Kadmium patří mezi toxikologicky nejvýznamnější kontaminanty životního prostředí. Jejich zvýšená koncentrace v jednotlivých složkách ekosystému vytváří reálné riziko poškození fyziologických funkcí živých organismů. Tyto toxické látky jsou nejčastěji do organismu přiváděny v malých dávkách po dlouhou dobu krmivem, pitnou vodou a v menší míře vdechovány ve formě aerosolů.

Do těla hospodářských zvířat se kadmium dostává rezorbcí z gastrointestinálního traktu (Hecht, 1982). Rezorbce je ale obecně nízká a je ovlivněna řadou faktorů. Mezi faktory, které ovlivňují vstřebávání kadmia do organismu patří: druh zvířete, dávka, věk, pohlaví, gravidita a laktace, přítomnost léků (Kido, 1991, Tsuritani, 1992). U laktujících krav je střevní absorpce 0,035 až 0,2% (Neathery, 1974; Van Bruwaene aj., 1982), u kozy 0,3% (Miller aj., 1969) a u prasat 5% (Cousins aj., 1973). Vstřebávání a kumulace v orgánech u březích a laktujících krav je výraznější ve srovnání s jalovými zvířaty. Důvodem je vyšší potřeba vápníku a následně pak zvýšené vstřebávání obou prvků (Bhattacharya, 1981). Pechová aj. (1998) potvrdili vysoce signifikantní vztah mezi stářím krav a obsahem kadmia v ledvinách. Zjistili rovněž, že dospělá zvířata měla signifikantně vyšší hladiny kadmia v ledvinách a játrech než telata.

Kontaminace biosféry cizorodými látkami, zvyšování koncentrace toxických prvků v životním prostředí - v ovzduší, vodě, půdě a poživatinách je vážný hygienický a zdravotní problém, nabývá stále většího významu, a proto je této problematice věnována větší pozornost. Produkty hospodářských zvířat hrají důležitou úlohu ve výživě lidí, proto je nutné sledovat obsah těchto látek v tkáních nejen vzhledem k jejich možným intoxikacím a poruchám jejich reprodukčních schopností, ale i z hlediska potenciálního ohrožení zdraví člověka. Poznatky o distribuci těžkých kovů v organismu zvířat je také možné využít při diagnostice toxikóz.

Cílem předložené práce bylo zjistit koncentrace kadmia ve tkáních krav, kterým bylo dlouhodobě podáván kadmium v krmivu.

MATERIÁL A METODY

Experimentální studie byly prováděny u zvířat, která byla v průběhu celého pokusu ustájena fakultní klinice. Skupinu pokusných zvířat tvořilo 6 březích krav českého strakatého plemene a jeho kříženců, stáří 4 až 8 let, tři krávy po jednom porodu a tři krávy po 4 porodech, užitkovost 4 000 kg mléka ročně, v živé hmotnosti 410 až 560 kg, dobrém výživném stavu a bez klinicky zjevných poruch zdraví. Krmná dávka se skládala z krmného sena podávaného *ad libitum* a krmné směsi pro dojnice. Napájení pomocí automatických napáječků *ad libitum*. Kontrolní skupinu tvořily 4 krávy obdobné plemenné skladby a chované ve stejných podmínkách.

Pokusným zvířatům byl individuálně podáván pšeničný šrot, ve kterém byl přimíchán síran kademnatý. Šrot s přídatkem kadmia byl podáván 1 krát denně na začátku krmení.

Dvěma zvířatům bylo kadmium podáváno v denní dávce 250 mg pro toto a čtyřem zvířatům 500 mg pro toto. Individuální dávky kadmia, jeho délka podávání před a po porodu jsou uvedeny v tabulce č. 1. Nejvyšší přípustné množství kadmia v celkové krmné dávce je 0,3 mg/kg krmiva.

U tří krav bylo podáváno kadmium až do doby porážky a celková doba zátěže kadmiumem byla 203 až 328 dnů. U tří zvířat se podávalo kadmium pouze do porodu a celková doba zátěže byla 68 až 138 dní s vysazením kadmia před poražením v období 24 až 135 dnů (tab. č. 1).

Ihned po poražení byly odebrány vzorky ledvin, jater, svalstva, dělohy a vaječníku. Z jater byl odebrán celý *lobus caudatus*. Byla odebrána levá i pravá ledvina, vzorek svalu byl odebrán z hýžděových svalů (*m. semitendineus* a *m. semimembranaceus*) v minimálním množství 100 g po odpreparování kůže. Vzorky byly po odběru individuálně vloženy do mikrotenových sáčků, zamrazeny a skladovány při teplotě -18°C až do laboratorního zpracování a stanovení obsahu kadmia.

Obsah kadmia ve tkáních byl stanoven metodou atomové absorpční spektrofotometrie (AAS) přístrojem Perkin Elmer 2380 plamennou technikou po suché mineralizaci.

Statistické vyhodnocení výsledků bylo provedeno pomocí Studentova t – testu.

VÝSLEDKY

Šetření o obsahu kadmia ve tkáních některých orgánů krav zatěžovaných po různě dlouhou dobu síranem kademnatým ukázala značné rozdíly v afinitě k jednotlivým tkáním (individuální obsahy kadmia v orgánech viz. tabulky č. 2 a 3) při jeho ukládání.

Nejvyšší naměřený obsah kadmia byl v ledvinách dále v játrech, děloze, ováriích a svalovině (viz. tabulka č. 4).

U zvířat zatěžovaných až do odporažení byl průměrný obsah kadmia v ledvinách statisticky vysoce významný rozdíl ($P < 0,01$) oproti kontrolním. U zvířat, kterým se nepodávalo kadmium až do odporažení, byl obsah kadmia v ledvinách také statisticky vysoce významný. Statisticky vysoce významný rozdíl ($P < 0,01$) je mezi zvířaty zatěžovanými a nezatěžovanými až do odporažení. Hygienický limit kadmia v ledvinách skotu je $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Druhý nejvyšší obsah kadmia byl zjištěn v játrech, přičemž rozdíl oproti kontrolním zvířatům byl rovněž statisticky vysoce významný pokud byly krávy zatěžovány až do odporažení, avšak jen statisticky významný ($P < 0,05$), u zvířat odporažených po době 1 až 4 měsíců od přerušení zátěže. U zvířat, kterým se nepodávalo kadmium až do odporažení byly hodnoty statisticky významně nižší ($P < 0,05$) oproti zvířatům, kterým bylo podáváno kadmium až do odporažení. Hygienický limit kadmia v játrech skotu je $0,8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Nález průměrného obsahu kadmia ve svalovině se nelišily mezi žádnou skupinou. Hygienický limit kadmia v mase je $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Pouze u krav zatěžovaných až do odporažení byl zjištěn statisticky významný rozdíl ($P < 0,05$) v ukládání kadmia v děloze ve srovnání s kontrolou. Obdobné poměry v obsahu kadmia byly i v ováriích u zatěžovaných krav až do odporažení ($P < 0,05$). Mezi skupinou zvířat, kterým bylo kadmium před porážkou vysazeno a skupinou kontrolní již nebyly zjištěny statistické rozdíly v ukládání kadmia do dělohy.

DISKUSE

V naší práci jsme sledovali afinitu kadmia a jeho ukládání v jednotlivých tkáních. Výsledky našich šetření prokázaly jeho záchyt ve všech sledovaných orgánech. Nejmarkantnější obsah kadmia byl zjištěn v játrech a ledvinách, což souhlasí se zjištěním u různých autorů. Doganoc (1996) zjišťoval hladiny kadmia u několika set kusů jatečného skotu a stanovil tyto koncentrace: v ledvinách 0,373 mg/kg, v játrech 0,094 mg/kg a v mase 0,004 mg/kg. Podobná šetření prováděl Niemi aj. (1991) a zjistili v ledvinách 0,350 mg/kg, v játrech 0,061 mg/kg a v mase 0,0013 mg/kg a Jorhem aj. (1991) zjistil v ledvinách 0,39 mg/kg, játrech 0,070 mg/kg a mase 0,001 mg/kg. Smith aj. (1991) zjistili u krav, kterým bylo dlouhodobě podáváno kadmium v dávce 0,025 a 0,125 mg/kg ž.hm. 8 až 10 krát vyšší koncentrace kadmia v ledvinách než v játrech.

Záchyt kadmia na jednotku hmotnosti byl v našem šetření u ledvin asi 3 až 4 krát větší než u jater, což odpovídá chronické otravě kadmiiem. Při akutní otravě je více kadmia v játrech než v ledvinách a při chronické je tomu naopak (Kačmár, 1985). Mladé dojnice mají v ledvinách nepatrně vyšší obsah kadmia než v játrech, kdežto u starých krav jsou koncentrace kadmia v ledvinách až tři krát vyšší než v játrech (Kačmár, 1985). Vysoké hladiny kadmia v těchto orgánech potvrzují to, že ledviny a játra sehrávají podstatnou roli v eliminaci a detoxikaci Cd v organismu. Kadmium se kumuluje v tubulárních buňkách ledvin a v játrech (Suzuki, 1980). Friberg aj. (1974) a Nomiyama (1981) udávají, že velká část kadmia je u savců vylučovaná žlučí do střev a při poškození ledvin i močí. V těchto případech je nejen u zvířat, ale i u lidí zjišťována proteinurie (Nomiyama, 1981). V játrech a ledvinách je kadmium detoxikováno a navázáno na specifický protein - metalothionein. Je dokázané, že malé dávky kadmia zvyšují syntézu metalothioneinu v játrech, který je nutný na jeho detoxikaci (Webb, 1989). Syntéza metalothioneinu, ale nastává až za 3 až 4 hodiny. Do této doby je v játrech volné kadmium, které může vyvolat poškození jater a vyvolat změny v aktivitě mnohých enzymatických systémů jater (Vojtíšek, 1989; Kielan, 1989). Kadmium detoxikované metalothioneinem putuje v této formě do ledvin a zde se ukládá (Cumbrowski, 1975). Při dlouhodobém příjmu kadmia, ale dochází ke snížení jeho vylučování a to se hromadí v játrech a ledvinách (Frimmer, 1986).

Při našem sledování byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly mezi kontrolními a pokusnými zvířaty. Na výši koncentrace kadmia v těchto orgánech mělo také vliv to, zda došlo k podávání kadmia až do termínu porážení nebo zda bylo určité období bez zátěže před porážením. U zvířat, kterým se vysadilo kadmium 1 až 4 měsíce před porážením byl nižší obsah kadmia v játrech i ledvinách oproti zvířatům, která byla zatěžována až do porážky.

Toto zjištění svědčí o postupném vylučování kadmia z organismu po ukončení zátěže a souhlasí se sledováním Millera aj. (1967) a Neatheryho (1974), kteří zjistili, že po skončení aplikace kadmia kravám u nich došlo během 14 dní k 80 až 90 % vyloučení kadmia. Mezi hlavní cesty vyloučení kadmia z organismu patří fekální exkrece a to i po intravenózní aplikaci (Van Bruwaene aj., 1982).

Ve svalovině nebyl zaznamenán rozdíl mezi kontrolními a pokusnými zvířaty, což svědčí o tom, že kadmium nemá výraznou afinitu ke svalové tkáni. Stejně nálezy zjistili Zmudski a Szkoda (1995) a Doganoc (1996) u jatečných zvířat kde byl nález ve svalovině velmi nízký. Taktéž Neathery a Miller (1975) udávají, že svalová tkáň obsahuje pouze malé množství kadmia a je proti jeho kumulaci chráněná. Smith aj. (1991) u krav po dlouhodobé zátěži kadmiiem zjistil obdobné koncentrace kadmia ve svalovině u kontrolních i u pokusných zvířat.

Statisticky významné rozdíly byly nalezeny při sledování koncentrace kadmia v pohlavním aparátu u ovárií i dělohy pouze u krav zatěžovaných až do porážky. Smith aj. (1991) zjistili kumulaci kadmia v děloze i ováriích krav po dlouhodobé zátěži 0,125 mg

Cd/kg ž. hm., přičemž u pokusných zvířat byly koncentrace kadmia statisticky vyšší ($P < 0,05$) než u kontrolních zvířat. Při našem sledování byly u kontrolních krav zjištěny obdobné koncentrace kadmia ve vaječnicích a děloze jaké stanovili při svých pozorováních Kudláč a Šimoník (1990) u krav ze zatížené oblasti.

I přes statistické rozdíly v obsahu kadmia v pohlavním aparátu byl nástup pohlavních funkcí u všech krav po porodu v rozmezí fyziologického období a nebyly zaznamenány žádné patologické změny na vaječnicích a na děloze. U sledovaného souboru nemělo kadmium v námi podávaných dávkách toxický vliv na ovariální funkci. Krávy měly fyziologické říje a v dalším období byly úspěšně použity k superovulaci a výplachu embryí. Massanyi aj. (1995) stanovovali hladiny kadmia v ováriích (0,01 až 0,02 mg/kg) a děloze (0,01 až 0,05 mg/kg) u jatečných krav a zjistili asi 10 krát nižší hladiny než byly stanoveny u našich pokusných krav.

U žádného z pokusných zvířat nebyl překročen hygienický limit obsahu kadmia v mase (svalovině), u jater byly zjištěny 3 až 8 krát a u ledvin 4 až 8 krát vyšší koncentrace kadmia než povoluje norma.

LITERATURA

- Bencko V., Cikrt M., Lener J. (1984): Toxické kovy v pracovním a životním prostředí člověka. Avicenum Praha, 264 s.
- Bhattacharya M. H., Whelton B. D., Peterson D. P. (1981): Gastrointestinal absorption of cadmium in mice during gestation and lactation. Short term exposure studies. *J. Toxicol. Appl. Pharmacol.* 61, 335 - 342.
- Cousins R. J., Barber A. K., Trout J. R. (1973): Cadmium toxicity in growing swine. *J. Nutr.* 103, 964 - 972.
- Cumbrowski J. (1975): Pathophysiologische Wirkungen des Cadmiums auf den menschlichen Organismus. *Z. arztl. Fortbild.*, 69, 876 - 879.
- Doganoc D. Z. (1996): Lead and cadmium concentrations in meat, liver and kidney of Slovenian cattle and pigs from 1989 to 1993. *Food Additives and Contaminants*, 13:2, 237 - 241.
- Friberg L., Piscator M., Nordberg G., Kjellstroem T. (1974): Cadmium in the Environment. Chapter 4: Metabolism. CRC Press. Cleveland, 23 - 27.
- Frimmer M. (1986): Pharmakologie und Toxikologie. 3. Aufl. Verlag Schattauer, Stuttgart - New York, 309 - 314.
- Hecht H. (1982): Die verschiedene Wege und Moglichkeiten des Eintrags von Schwermetellen im die Futtermittel und die dabei zu beachtenden Belastungsgrenzen. *Landwirtschaftl. Forsch. Sonderh.*, 63, 94 - 106.
- Jorhem L., Slorach S., Sundstrom B., Ohlin B. (1991): Lead, cadmium, arsenic and mercury in meat, liver and kidney of Swedish pigs and cattle in 1984 - 1988. *Food. Addit. Contam.*, 8 (2), 201 - 211.
- Kačmár P. (1985): Kadmium. In: Piskač, A. - Kačmár P.: Veterinární toxikologie, SZN Praha, 256 s.
- Kido T., Honda R., Tsuritani I., Ishizaki M., Iamada Y., Nakagawa H., Nogawa K., Dohi Y. (1991): Serum levels of bone gla - protein in inhabitants exposed to environmental cadmium. *Arch. Environm. Health.* 46, 43 - 49.
- Kielan Z., Ziolkowska B., Falkus B., Jehton Y. (1989): Effect of Cd intoxication on glucose utilization in energy metabolism of muscle. *Acta Physiol. Pol.*, 40, 535 - 543.
- Kudláč E., Šimoník I. (1990): Toxische Elemente im Geschlechtsapparat der Kuhe und ihr Zusammenhang mit der Fruchtbarkeit. *Dtsch. tierarztl. Wschr.*, 97, 396 - 398.

- Massanyi P., Toman R., Ferdinand N. (1995): Concentrations of cadmium in ovary, oviductus, uterus, testis and tunica albuginea of testis in cattle. *Journal of Environmental Science and Health, Part A, Environmental Science and Engineering and Toxic and Hazardous Substance Control*, 156 - 160.
- Miller W. J., Lampp B., Fowell G. W., Salotti C. A., Blackmore D. M. (1967): Influence of a high level of dietary cadmium on cadmium content in milk excretion and cow performance. *J. Dairy Sci.* 50, 1404 - 1408.
- Miller W. J., Blackmore D. M., Gentry R. P., Pate F. M. (1969): Effect of dietary cadmium on tissue distribution of ¹⁰⁹Cadmium following a single oral dose in young goats. *J. Dairy Sci.* 52, 2029 - 2035.
- Neathery M. W. (1974): Cadmium 109 and methyl mercury-203 metabolism, tissue distribution and secretion into milk of cows. *J. Dairy Sci.* 57, 1177 - 1183 .
- Neathery M. V., Miller W. J. (1975): Metabolism and toxicity of Cd, Cu and Pb in animals. *J. Dairy Sci.* 58, 1777 - 1781.
- Niemi A., Venalainen E. R., Hirvi T., Hirn J. Karppanen E. (1991): The lead, cadmium and mercury concentrations in muscle, liver and kidney from Finnish pigs and cattle during 1987 - 1988. *Z Lebensm Unters Forsch*, 192 (5), 427 - 429.
- Nomiyama K. (1981): Renal effects of cadmium. In: J. O. Nriagu (Ed.) *Cadmium in the Environment: Part II Health Effects*. John Wiley & Sons, New York. 643 - 689.
- Pechová A., Illek J., Pavlata L., Šindelář M., Horký D. (1998): A Comparison of Cadmium Concentrations in Tissues of Different Categories of Cattle. *Acta vet. Brno* 67. 103 - 107.
- Smith R. M., Leach R. M., Muller L. D., Griel L. C., Baker D. E. (1991): Effects of long - term dietary cadmium chloride on tissue, milk and urine mineral concentrations of lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.*, 69, 4088 - 4096.
- Suzuki Y. (1980): Cadmium metabolism and toxicity in rats after long - term subcutaneous administration. *J. Toxicol. Environ. Health* 6, 469 - 482.
- Tsuritani I., Honda R., Ishizaki M., Yamada Y.N. (1992): Impairment of vitamin D metabolism, due to environmental Cd exposure and possible relevance to sex related differences in vulnerability to the bone damage. *J. of Tox. and Envir. Health.*, 37, 519 - 533.
- Van Bruwaene R., Gerber G. B., Kirchmann R., Colard J. (1982): Transfer and distribution of radioactive cadmium in dairy cows. *Int. J. envir. Stud.* 9, 47 - 51.
- Vojtíšek M., Hulinská D., Bittnerová D., Cikrt M., Hulinský V. (1989): Cadmium influence on the rat liver, *Acta Morphol. Hungary.*, 37, 201 - 217.
- Webb M. (1989): *The chemistry, biochemistry and biology of cadmium*. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam/New York, 86 s.
- Zmudski J., Szkoda J. (1995): Cadmium concentration in animal tissues and food of animal origin. *Medycyna - Pracy*, supp. 5, 71 - 81.

Supported by the Grant Agency of the Czech Republic (Grant No. 507/93/2460)