

# Praćenje efekata izloženosti olovu i kadmijumu u radnoj i životnoj sredini preko parametara standardne biohemijske analize krvi i aktivnosti endonukleaza jetre

Ružica S. Nikolić<sup>1</sup>, Jasmina M. Jovanović<sup>1</sup>, Gordana M. Kocić<sup>2</sup>, Tatjana P. Cvetković<sup>2</sup>,  
Svetlana R. Stojanović<sup>2</sup>, Tatjana D. Anđelković<sup>1</sup>, Nenad S. Krstić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Prirodno–matematički fakultet, Univerzitet u Nišu, Niš, Srbija

<sup>2</sup>Medicinski fakultet, Univerzitet u Nišu, Niš, Srbija

## Izvod

Teški metali kao polutanti u radnoj i životnoj sredini su ozbiljan zdravstveni i ekološki problem zato što su toksični, nisu biorazgradivi, akumuliraju se u živim sistemima i imaju dugo poluvremena života u zemljištu. U radu je analiziran uticaj izloženosti olovu i kadmijumu u radnoj i životnoj sredini preko model sistema eksperimentalnih životinja na parametre standardne hematološke analize, vrednost proteina i aktivnost nekih enzima jetre (kisele i alkalne DNaze kao pokazatelja intenziteta degradacije DNK, mogućeg parametra apoptoze) bez, i u prisustvu suplemenata glutaciona i liponske kiseline. Studija je pokazala da olovo i kadmijum značajno utiču na sadržaj proteina, RCB, Hb i Hct. Ovi metali značajno povećavaju aktivnost DNaza, a dodati suplementi stupaju u interakciju sa njima i na taj način značajno smanjuju negativan efekat delovanja istih.

**Cljučne reči:** Olovo; kadmijum; toksičnost; hematološki parametri; enzimi jetre.

Dostupno na Internetu sa adrese časopisa: <http://www.ache.org.rs/HI/>

NAUČNI RAD

UDK 504.5:546.815:546.48:616–008

*Hem. Ind.* 65 (4) 403–409 (2011)

doi: 10.2298/HEMIND110308027N

Teški metali (Pb, Cd, Cu, Cr i dr.) kao polutanti u radnoj i životnoj sredini su ozbiljan zdravstveni i ekološki problem zato što su toksični, nisu biorazgradivi i imaju veoma dugo poluvremena života u zemljištu [1]. Izvori kontaminacije olovom su produkti sagorevanja u metalurgiji i hemijskoj industriji, industrijske otpadne vode, deponije, saobraćaj. Olovu su najviše izloženi radnici u topionicama i livnicama ovog metala, industriji boja, keramičkoj i industriji proizvodnje i obrade stakla, u industriji baterija i akumulatora, fabrikama oružja i municije. Iz atmosfere, zemljišta, voda (površinskih i podzemnih), olovo se unosi i zadržava u biljkama, a dalje preko lanca ishrane i vode za piće dospeva i u ljudski organizam. Putevi unosa olova su vrlo različiti. Osim preko hrane i vode za piće, olovo se može uneti i preko vazduha zagađenog produktima sagorevanja fosilnih goriva, do ambalaže za hranu koja je u nekoj fazi izrade bila u kontaktu sa ovim metalom [2]. Na globalnom nivou, do skoro, najveći deo zagađenja atmosfere olovom je poticao od sagorevanja goriva u motornim vozilima, gde je olovo prisutno kao alkil-olovo, aditiv goriva. Pored ovog izvora, olovo potiče i od miniranja u rudnicima, zatim recikliranja baterija i drugih materijala koji sadrže olovo. Zagađenje olovom je „bolest“ životne sredine zbog njegove rastvorljivosti, pokretljivosti i akumulacije u zemljištu [3]. Olovne boje su u 90% slučajeva

uzroci trovanja kod dece koja se igraju igračkama obojenim tim bojama [4]. Olovo iz voda za piće se verovatno više apsorbuje nego olovo iz hrane, prema nekim studijama odrasli apsorbuju 35 do 50% unetog metala, a procenat apsorpcije za decu može biti veći od 50%. Na apsorpciju olova utiče pored uzrasta i opšte fiziološko stanje organizma [5].

Prema geohemijskim karakteristikama, kadmijum se u prirodi nalazi zajedno sa cinkom, bakrom i olovom. Vulkanska aktivnost je jedan od razloga za povremeni porast koncentracije kadmijuma u životnoj sredini, pre svega u vazduhu. Stalni izvori kontaminacije kadmijumom su vezani za njegovu primenu u industriji, kao antikorozivnog reagensa, stabilizatora u PVC proizvodima i proizvodnji pneumatika, pigmenta boja, i u proizvodnji Ni–Cd baterija. Fosforna đubriva, takođe, pokazuju relativno visok sadržaj kadmijuma, i njihovo korišćenje doprinosi povećanom unosu ovog metala u zemljište. Iako se neki produkti koji sadrže kadmijum mogu reciklirati, veliki deo zagađenja ovim metalom rezultat je neadekvatnog odlaganja i nekontrolisanog spaljivanja otpada koji sadrži kadmijum [6]. U Skandinaviji, na primer, koncentracija kadmijuma u poljoprivrednom zemljištu se povećava za 0,2% godišnje. Najveći izvor inhalacione intoksikacije kadmijumom je pušenje. Ukupna globalna emisija kadmijuma se procenjuje na oko 7000 t na godišnjem nivou [7].

Dnevne količine unetog olova, oralno i inhalacijom, mogu biti i oko 0,3 mg. Iste se delom eliminišu iz organizma ekskrecijom ali i akumuliraju, tako da se u krvi normalno može naći oko 250 µg/dm<sup>3</sup>. Porast nivoa

Prepiska: R.S. Nikolić, Odsek za hemiju, Prirodno–matematički fakultet, Univerzitet u Nišu, Višegradska 33, 18000 Niš, Srbija.

E-pošta: [ruzicanf@yahoo.com](mailto:ruzicanf@yahoo.com)

Rad primljen: 8. mart, 2011

Rad prihvaćen: 14. april, 2011

ovog metala u krvi je dalje umereno rizičan ( $250\text{--}490\text{ }\mu\text{g}/\text{dm}^3$ ), visokorizičan ( $500\text{--}690\text{ }\mu\text{g}/\text{dm}^3$ ) i urgentan, sa više od  $700\text{ }\mu\text{g}/\text{dm}^3$  u telesnoj tečnosti [2,8]. Maksimalne dozvoljene vrednosti kadmijuma za radnike su mnogo niže, po nemačkom zakonu na primer one iznose  $15\text{ }\mu\text{g}/\text{dm}^3$ . Poređenja radi, kod nepušača je prosečna koncentracija kadmijuma u krvi  $0,5\text{ }\mu\text{g}/\text{dm}^3$  [9].

Olovo nije esencijalni metal, ali uneto u organizam može se naći u gotovo svim tkivima i organima sisara. Kao metal sa kumulativnim dejstvom olovo je konkurentno esencijalnim metalima (gvožđu, kalcijumu, bakru i cinku) za njihove brojne funkcije u organizmu, posebno one vezane za prisustvo slobodnih  $\text{--SH}$  grupa u delovima biomolekula proteina i enzima. Prema fizičko-hemijskim osobinama,  $\text{Pb}^{2+}$  može lako da zameni  $\text{Ca}^{2+}$  u kalcifikovanim tkivima (kostima i zubima), ali i u različitim rastvornim kompleksima ovog metala sa bioligandima u biološkim tečnostima i tkivima. Olovo u kostima doprinosi razvoju osteoporoze, smanjenju koštane mase, promeni strukture i povećanoj resorpciji kostiju kod starijih osoba [10,11]. Unošenje nekih namirnica bogatih vitaminom C i gvožđem, može dovesti do povećane mobilnosti ovog metala iz tkiva i povećanja nivoa  $\text{Pb}^{2+}$  u krvi. Povećano prisustvo ovog metala pripisuje se, u nekim slučajevima, pojavi hipertenzije, srčane aritmije, malignim promenama u digestivnom traktu, plućima i bubrežima [12]. Koncentracija kadmijuma u krvi služi kao pouzdan pokazatelj skorom izlaganju kadmijumu, dok urinarna koncentracija pokazuje ranije izloženosti [13].

Jedan od razloga štetnog efekta olova je njegova sposobnost da se snažno vezuje za sulfhidrilne grupe proteina i kompetitivan je za vezivanje sa  $\text{Ca}^{2+}$ , i doprinosi stvaranju reaktivnih vrsta kiseonika *in vivo*, što dovodi do smanjenja unutrašnje antioksidativne odbrane, i izaziva poremećaje u razmeni jona elektrolita kroz ćelijske membrane [5,14]. Olovo inhibira i pojedine faze u sintezi hema [3].

Unos hrane koja je kontaminirana kadmijumom dovodi i do gastrointestinalnih poremećaja (povraćanje i dijareja), a sistematsko izlaganje utiču na kadmijuma dovodi do povećane ekskrecije kalcijuma, što predstavlja povećan rizik za stvaranje kamena u bubrežima i oštećenje kostiju [9]. Takođe, povećana koncentracija kadmijuma u organizmu utiče na aktivnost brojnih enzima [15].

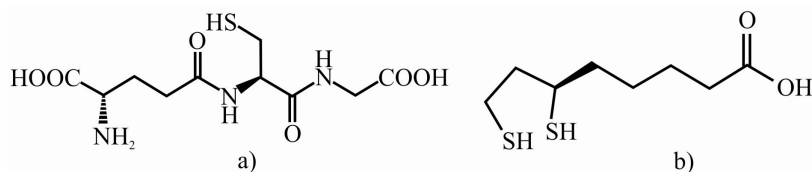
Prema fizičko-hemijskim osobinama, olovo i kadmijum imaju poseban afinitet za vezivanje sa sumporom, pa lako mogu da inhibiraju fiziološku aktivnost enzima sa aktivnim  $\text{--SH}$  grupama.

Glutation (GSH) jeste tripeptid L- $\gamma$ -glutamil-L-cisteinil-glicin (slika 1a) koji čini 90% ukupnih neproteinskih sulfidnih jedinjenja ćelije i esencijalni je kofaktor nekih enzima. To je i biološki redoks sistem u metabolizmu eritrocita, a ima ulogu i u transportu aminokiselina. Glavni izvori glutathiona u namirnicama su: brokoli, spanać, avokado, prokelj, karfiol, kupus i kelj. Glutation kao helatni agens sadrži tiolnu grupu preko koje formira merkaptidnu vezu sa jonima teških metala: Zn, Cu, Cd, Pb i Ag. Najverovatnija formula kompleksa glutathiona sa jonima teških metala je  $\text{M}(\text{GSH})_2$ . Stabilnost kompleksa glutathiona sa jonima teških metala zavisi od njihove veličine, kiselo-baznih osobina i afiniteta metalnih jona prema tiolnoj grupi koji opada u nizu:  $\text{Cd}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$  [16].

Liponska kiselina (LA) jeste ciklični disulfid (slika 1b), i ista je preko karboksilne grupe povezana sa proteinskim delom enzima kao amid. Učestvuje, pre svega, u oksidativnoj dekarboksilaciji 2-oksikiselina, a aktivni  $\text{--SH}$  centri u redukovanom obliku su mesta na koja se lako vežu teški metali. Poznato je njeno antioksidativno dejstvo.

Liponska kiselina se javlja kao kovalentno vezana za lizin u proteinima (lipolizin). Iako je LA široko zastupljena u hrani životinjskog i biljnog porekla, kvantitativni podaci o sadržaju LA ili lipolizina su ograničeni i ne postoje odgovarajuće baze podataka. Životinjska tkiva koja su bogata lipolizinom su bubrezi, srce i jetra, dok su jestive biljke koje sadrže lipolizin spanać i brokoli. Male količine lipolizina su izmerene u paradajzu, grašku i kelju [17].

Endonukleaze jetre, kisela i alkalna DNaza, spadaju u klasu hidrolaza i razlažu, kako nativne, tako i denaturisane molekule DNK. Osnovna uloga DNaza se ogleda u regulaciji sinteze i razgradnje endogenih i egzogenih DNK, u reparaciji modifikovanih DNK i uklanjanju cirkulišućih DNK iz organizma. Prema literaturnim podacima DNaze se smatraju kao glavni egzekutori apoptoze, odgovorni za internukleozomalnu fragmentaciju DNK ćelije u apoptozu. Internukleozomalna DNK fragmentacija, kao biohemijski marker apoptoze, jeste razlaganje hromozomske DNK na fragmente veličine oligonukleozoma [18,19].



Slika 1. Glutation (a) i liponska kiselina (b).  
Figure 1. Glutathione (a) and lipoic acid (b).

Ova studija je rađena sa ciljem da se ispituju toksični efekti izloženosti uticaju olovu i kadmijumu u životnoj i radnoj sredini i da se istaknu parametri preko kojih se isti mogu pratiti. Namera je bila i da se ispita uticaj suplemenata (LA, GSH) koji prema strukturi mogu da reaguju sa teškim metalima i tako smanje toksično delovanje, a radi prevencije i smanjenja istog, o čemu nema literaturnih podataka.

## EKSPERIMENTALNI DEO

### Model sistem

Model sistem za ispitivanje uticaja izloženosti olovu i kadmijumu radnika u industriji i uopšte u životnoj i radnoj sredini, bila je studija na belim pacovima Wistar soja, ženskog pola, starosti 6 nedelja, težine  $230 \pm 30$  g [20]. Eksperimentalne životinje su gajene u laboratorijskim uslovima na normalnom režimu ishrane u vivarijumu Medicinskog fakulteta u Nišu, u skladu sa pravilima lokalnog etičkog komiteta, podeljene u 9 grupa od po 5 životinja. Grupa I je kontrolna grupa na normalnom režimu ishrane i života. Grupe životinja II i III su intoksicirane olovo(II)-acetatom ( $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ), odnosno kadmijum(II)-hloridom ( $\text{CdCl}_2$ ). Grupe IV i V, odnosno VI i VII su uz olovo(II)-acetat, odnosno kadmijum(II)-hlorid dobijale i odgovarajući suplement liponsku kiselinu ili glutation. Grupe životinja VIII i IX su uz normalnu ishranu dobijale suplement liponsku kiselinu, odnosno glutation.

### Intoksikacija teškim metalima i dodatak suplemenata

U toku 3 nedelje trajanja eksperimenta, životinje su dozirano intoksicirane intraperitonealnom injekcijom (i.p.) olovo(II)-acetatom u fiziološkom rastvoru, subletalnom dozom od 21 mg po životinji raspoređenih u 7 ravnomernih doza. Intoksikacija kadmijumom izvedena je za 5 dana u dve doze od po 0,9 mg kadmijum(II)-hlorida u fiziološkom rastvoru po životinji. Suplementi liponska kiselina, odnosno glutation su dozirani i.p. injekcijom u ukupnoj dozi od 2,4 mg, odnosno 4 mg u fiziološkom rastvoru po životinji (7 doza za 21 dan). Sve hemikalije su bile čistoće p.a., proizvođača Merck.

### Priprema biološkog materijala za analize

Sve procedure su obavljene nakon anestezije ketalarom (35 mg/kg telesne mase). Uzorci krvi dobijeni su iz abdominalne aorte heparinizovanim špricom za određivanje hematoloških parametara. Nakon žrtvovanja životinjama je, posle medijalne laparatomije, vađena jetra koja je nakon ispiranja u fiziološkom rastvoru, dekapulirana, zamrzavana i kasnije korišćena za pravljenje homogenata. Iz 10% homogenata jetre spremljenog u odgovarajućem medijumu određivana je aktivnost kisele i alkalne DNaze i vrednost proteina [21,22]. Biohemijski

reagensi su bili spektroskopske čistoće proizvođača Sigma–Aldrich.

### Određivanje hematoloških parametara

Hematološki parametri eritrociti (RBC), hemoglobin (Hb) i hematokrit (Hct) mereni su na automatskom analizatoru na Klinici za nefrologiju, Kliničkog centra u Nišu, po proceduri koja se oficijelno primenjuje u biohemijskim laboratorijama.

### Praćenje enzimske aktivnosti i određivanje vrednosti proteina

Aktivnost kisele i alkalne DNaze praćena je spektrofotometrijski (Beckman DU 530 spektrofotometar) po metodi Bartholeyns-a, a vrednost proteina je određivana po metodi Lowrey-a [23,24].

### Statistička analiza

Za statističku obradu rezultata primenjen je *t*-test studenta (Microsoft Office Excel). Svi rezultati merenja prikazani su kao srednja vrednost  $\pm SD$ . Statistički značajni rezultati prikazani su kao  $p < 0,01$ ;  $p < 0,05$  i  $p < 0,1$ .

## REZULTATI I DISKUSIJA

Rezultati ispitivanja uticaja olova i kadmijuma na standardne hematološke parametre krvi pacova, eritrocite (RBC), hemoglobin (Hb) i hematokrit (Hct), koji su dobijali i.p. olovo(II)-acetat, odnosno kadmijum(II)-hlorid prikazani su u tabeli 1 i na slici 2.

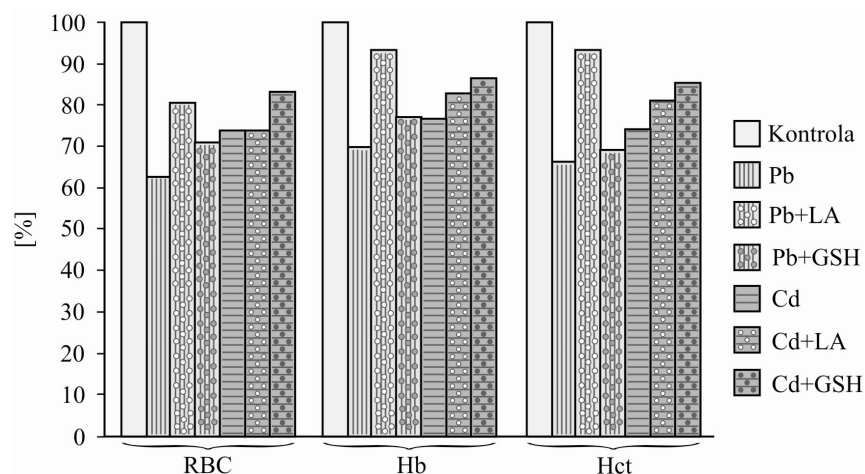
*Tabela 1. Standardni hematološki parametri eksperimentalnih životinja intoksiciranih olovom i kadmijumom, u odsustvu i prisustvu suplemenata (LA i GSH)*

*Table 1. Standard hematological blood parameters of rats poisoned with lead and cadmium, with and without supplements (LA and GSH)*

Tretman	RBC $\times 10^{12}$ , L <sup>-1</sup>	Hb, g/L	Hct, %
Kontrola	7,38 $\pm$ 0,34	140,17 $\pm$ 4,46	40,55 $\pm$ 1,52
LA	7,73 $\pm$ 0,28	159,60 $\pm$ 1,14	45,26 $\pm$ 0,99
GSH	7,51 $\pm$ 0,03	150,80 $\pm$ 1,48	43,30 $\pm$ 0,24
Pb	4,61 $\pm$ 0,23	97,40 $\pm$ 0,89	26,80 $\pm$ 0,56
Pb+LA	5,95 $\pm$ 0,32	130,40 $\pm$ 1,14	37,74 $\pm$ 0,78
Pb+GSH	5,21 $\pm$ 0,32	107,80 $\pm$ 1,48	27,94 $\pm$ 1,02
Cd	5,43 $\pm$ 0,06	108,40 $\pm$ 0,89	29,96 $\pm$ 0,91
Cd+LA	5,44 $\pm$ 0,06	115,80 $\pm$ 0,84	32,80 $\pm$ 1,04
Cd+GSH	6,12 $\pm$ 0,17	120,80 $\pm$ 1,48	34,60 $\pm$ 1,47

Olovo verovatno inhibira pojedine faze u sintezi hemoglobina, tako da se hematološki efekti uticaja ovog metala mogu uočiti u smanjenom broju eritrocita, količini hemoglobina i procentu hematokrita [25].

Vrlo brzo nakon unošenja kadmijuma u organizmu eksperimentalnih životinja dolazi do značajnih promena koje se manifestuju, između ostalog, smanjenim sadr-



Slika 2. Uticaj Pb, Cd i suplemenata (LA, GSH) na standardne hematološke parametre eksperimentalnih životinja izražen u procentima.

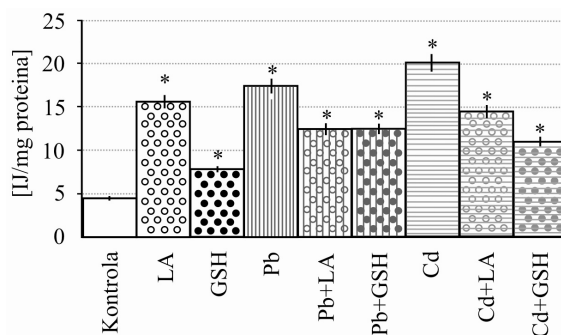
Figure 2. Influence of Pb, Cd and supplements (LA, GSH) to standard haematological parameters of experimental animals expressed as a percentage.

žajem hemoglobina u krvi, broja eritrocita i procenta hematokrita.

Rezultati hematološke analize krvi pokazali su da se efekti sistematske intoksikacije olovom i kadmijumom mogu pratiti merenjem sadržaja hemoglobina, eritrocita i hematokrita. Nivo hemoglobina u krvi značajno opada, za oko 30% u odnosu na grupu koja je bila na normalnom režimu života i ishrane. Izloženost olovu i kadmijumu dovodi do opadanja broja eritrocita u krvi, od  $7,38 \times 10^{12}$  do  $4,61 \times 10^{12}/L$  i od  $7,38 \times 10^{12}$  do  $5,43 \times 10^{12}/L$ , redom. Ovi rezultati su slični onima koje su dobili Tung i saradnici prateći efekte izloženosti pilića uticaju kadmijum(II)-hlorida [26].

Dodavanjem glutationa, dan nakon unošenja olova i kadmijuma, nivo hemoglobina i eritrocita u krvi se skoro približava vrednostima kod kontrolne grupe životinja. To je verovatno iz razloga što se uneto olovo i kadmijum vežu za aktivno mesto glutationa ( $-SH$ ) i tako se „blokira“ i umanjuje njihovo toksično dejstvo. To može biti osnova pretpostavke da se unošenjem hrane bogate proteinima može smanjiti resorpcija olova i kadmijuma [20]. Prema podacima iz tabele 1 i sa slike 2, liponska kiselina može biti dobar „protivotrov“ kod trovanja olovom i kadmijumom. Dodatak ovog suplementa eksperimentalnim životinjama, nakon trovanja ovim metalima, eliminiše negativne efekte koje ispoljavaju isti na hematološke parametre krvi (RBC, Hb i Hct). To je verovatno zbog veće mogućnosti blokiranja  $Pb^{2+}$  i  $Cd^{2+}$ , i građenja kompleksa preko dva aktivna  $-SH$  centra po molekulu LA. Vremenska razlika između unošenja ovih metala i liponske kiseline (jedan dan), ukazuje na mogućnost da liponska kiselina i namirnice koje je sadrže mogu biti dobar suplement za smanjenje toksičnog dejstva teških metala olova i kadmijuma.

Rezultati određivanja aktivnosti enzima jetre, kisele i alkalne DNaze, eksperimentalnih životinja koje su bile intoksicirane olovo(II)-acetatom, odnosno kadmijum(II)-hloridom, a takođe i rezultati merenja istih u prisustvu LA i GSH, prikazani su na slici 3 za kiselu, i slici 4 za alkalnu, u internacionalnim jedinicama po gramu proteina. Internacionalnim jedinicama po gramu proteina za prečišćene alkalnu i kiselu DNazu definisana je kao povećanje absorbance za 0,001/min u uzorku koji sadrži 0,132 mg DNK (U/g proteina) [27].

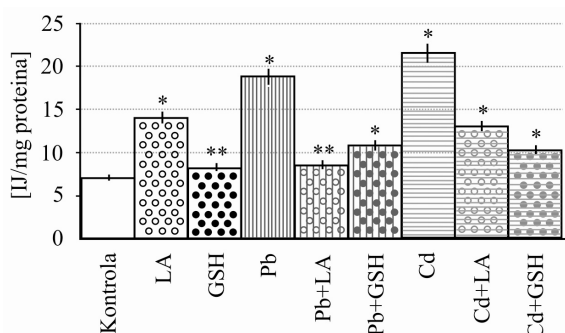


Slika 3. Rezultati određivanja enzima jetre kisele DNaze eksperimentalnih životinja intoksiciranih olovom i kadmijumom, u odsustvu i prisustvu suplemenata (\* –  $p < 0,01$ ).

Figure 3. Results of the determination of liver enzymes acid DNase experimental animals intoxicated by lead and cadmium, with and without supplements (\* –  $p < 0,01$ ).

Rezultati određivanja enzima jetre, kisele i alkalne DNaze, pokazali su da olovo i kadmijum višestruko, statistički značajno, povećavaju vrednost ovih enzima ( $p < 0,01$ ). Pretpostavka je da je kadmijum verovatni uzročnik nastanka oksidativnih oštećenja DNK, proteina i lipida što dovodi do apoptoze. Kadmijum može da do-

vede do povećanog stvaranja slobodnih kiseoničnih radikala, pa se može govoriti o genotoksičnom uticaju ovog metala na enzimske i neenzimske komponente antioksidativnog sistema odbrane organizma [28]. DNK oštećenja i genotoksični efekti u ćeliji mogu biti povećani kada su ćelije izložene uticaju olova, što dovodi do aktiviranja DNaza koje će učestvovati u degradaciji DNK kao krajnji efekat aktivacije apoptoze, tj. programirane ćelijske smrti [29]. Dodatkom suplemenata, dan nakon izloženosti uticaju metala, u toku trajanja eksperimenta, delom se umanjuje efekat trovanja. Liponska kiselina kao efikasan antioksidans, i lipo i hidrosolubilno jedinjenje lako prolazi kroz membrane u citoplazmu i učestvuje u zaštiti od slobodnih reaktivnih radikala, regulaciji genske ekspresije, i dr. LA je efikasniji detoskikant zbog dve slobodne –SH grupe preko kojih može da gradi stabilne merkaptide, i tako blokira teške metale i smanjuje njihovo toksično delovanje.



Slika 4. Rezultati određivanja enzima jetre alkalne DNaze eksperimentalnih životinja intoksikiranih olovom i kadmijumom, u odsustvu i prisustvu suplemenata (\* –  $p < 0,01$ ; \*\* –  $p < 0,1$ ).

Figure 4. Results of the determination of liver enzymes alkaline DNase experimental animals intoxicated by lead and cadmium, with and without supplements (\* –  $p < 0,01$ ; \*\* –  $p < 0,1$ ).

Sadržaj proteina jetre je značajno umanjen kod eksperimentalnih životinja koje su tretirane olovo(II)-acetatom i kadmijum(II)-hloridom. Dodatkom „protivotrova“ (LA i GSH) nepoželjni efekat prisutnog olova i kadmijuma se značajno smanjuje (slika 5).

## ZAKLJUČAK

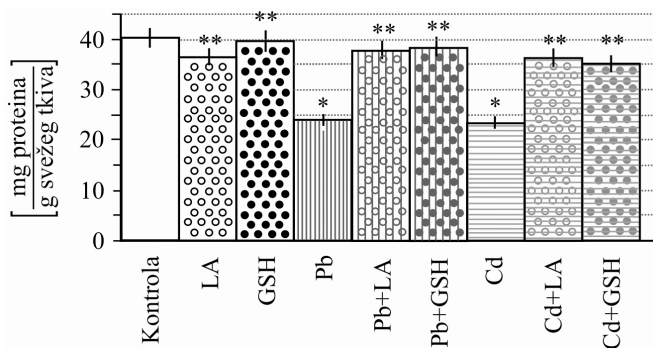
Ova studija na eksperimentalnim životinjama, kao model sistemu za ispitivanje izloženosti toksičnom dejstvu olova i kadmijuma, pokazala je da sistematsko izlaganje uticaju olova i kadmijuma ima za posledicu značajno smanjenje vrednosti hematoloških parametara analize krvi (Hb, RBC i Hct), tako da isti mogu biti pokazatelji negativnih efekata izloženosti uticaju toksičnih metala. Ovi nepoželjni efekti se mogu uspešno smanjiti, skoro eliminisati pomoću liponske kiseline i glutaciona, koji se dodaju uz redovnu ishranu kao suplementi. Rezultati prikazani u ovom radu pokazuju da se olovo i kadmijum delom akumuliraju u jetri i da se taj efekat njihovog prisustva i toksičnog delovanja može pratiti preko hematoloških parametara krvi, određivanjem RBC, Hb i Hct, kao i preko aktivnosti endonukleaza jetre.

## Zahvalnica

Ovaj rad je urađen uz finansijsku pomoć Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije u okviru projekata TR31060 i ON171025.

## LITERATURA

- [1] M.S. Ram, L. Singh, M.V. Suryanarayana, S.T. Alam, Effect of Iron, Nickel, Cobalt on bacterial activity and dynamics during anaerobic oxidation of organic matter, *Water Air Soil Poll.* **117** (2000) 305–312.
- [2] R.A. Goyer, C.D. Clasen, *Metal Toxicology*, Academic Press, San Diego, CA, 1995, pp. 31–45.
- [3] R.A. Goyer, Toxic and essential metal interactions, *Annu. Rev. Nutr.* **17** (1997) 37–50.
- [4] D.E. Glotzer, Management of childhood lead poisoning:



Slika 5. Sadržaj proteina u krvi eksperimentalnih životinja intoksikiranih olovom i kadmijumom, u odsustvu i prisustvu suplemenata (\* –  $p < 0,01$ ; \*\* –  $p < 0,1$ ).

Figure 5. Protein content in the blood of experimental animals intoxicated by lead and cadmium, with and without supplements (\* –  $p < 0,01$ ; \*\* –  $p < 0,1$ ).

- strategies for chelation, *Pediatr. Ann.* **23** (1994) 606–612.
- [5] S.J.S. Flora, G.J.S. Flora, G. Saxena, in *Lead: Chemistry, Analytical Aspects, Environmental Impacts and Health Effects*, S.B. Cascas, J. Sordo (Eds.), Elsevier Publication, Netherlands, 2006, pp. 158–228.
- [6] L. Jarup, Hazards of heavy metal contamination, *Brit. Med. Bull.* **68** (2003) 167–182.
- [7] M. Stoeppler, Cadmium, in *Metals and their compounds in the environment*, E.M. Weinheim (Ed.), Verlag Chemie, 1991, pp. 805–849.
- [8] E. Munoz, S. Palermo, Determination of heavy metals in honey by potentiometric stripping analysis and using a continuous flow methodology, *Food Chem.* **94** (2006) 478–483.
- [9] J. Godt, F. Scheidig, C. Grosse-Siestrup, V. Esche, P. Brandenburg, A. Reich, D.A. Groneberg, The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health, *J. Occup. Med. Toxicol.* **1:22** (2006), doi:10.1186/1745-6673-1-22 (<http://www.occup-med.com/content/1/1/22>).
- [10] B.M. Kaličanin, R.S. Nikolić, N.J. Marjanović, Application of potentiometric stripping analysis with constant inverse current for determining soluble lead in human teeth, *Anal. Chim. Acta* **525** (2004) 114–119.
- [11] B.M. Kaličanin, R.S. Nikolić, G.M. Nikolić, Potentiometric stripping analysis of lead and cadmium leaching from dental prothetic materials and teeth, *J. Serb. Chem. Soc.* **69** (2004) 575–580.
- [12] M.F. Counis, L-DNase II, a molecule that links proteases and endonucleases in apoptosis, derives from the ubiquitous serpin leukocyte elastase inhibitor, *Mol. Cell. Biol.* **18** (1998) 3612–3619.
- [13] T. Jin, M. Nordberg, W. Frech, X. Dumont, A. Bernard, T.T. Ye, Q. Kong, Z. Wang, P. Li, N.G. Lundstrom, Y. Li, G.F. Nordberg, Cadmium biomonitoring and renal dysfunction among a population environmentally exposed to cadmium from smelting in China (ChinaCad), *Bio-metals* **15** (2002) 397–410.
- [14] N. Ercal, P. Treratphan, T.C. Hammond, R.H. Mathews, N.H. Grannemann, D.R. Spitz, In vivo indices of oxidative stress in lead exposed C57BL/6 mice are reduced by treatment with meso-2, 3-dimercaptosuccinic acid or N-acetyl cysteine, *Free Radic. Biol. Med.* **21** (1996) 157–161.
- [15] D. Gaurav, S. Preet, K.K. Dua, Chronic Cadmium Toxicity in Rats: Treatment with Combined Administration of Vitamins, Amino Acids, Antioxidants and Essential Metals, *J. Food Drug Anal.* **18** (2010) 464–470.
- [16] K. Połec-Pawlak, R. Ruzik, E. Lipiec, Investigation of Cd(II), Pb(II) and Cu(I) complexation by glutathione and its component amino acids by ESI-MS and size exclusion chromatography coupled to ICP-MS and ESI-MS, *Talanta* **72** (2007) 1564–1572.
- [17] J.K. Lodge, H.D. Youn, G.J. Handelman, Natural sources of lipoic acid: determination of lipoyllysine released from protease-digested tissues by high performance liquid chromatography incorporating electrochemical detection, *J. Appl. Nutr.* **49** (1997) 3–11.
- [18] A.H. Wyllie, J.F. Kerr, A.R. Currie, Cell death: the significance of apoptosis, *Int. Rev. Cytol.* **68** (1980) 251–306.
- [19] F.M. Hughes, J.A. Cidlowski, Apoptotic DNA degradation: evidence for novel enzymes, *Cell. Death Differ.* **1** (1994) 11–17.
- [20] A.L. Sayeda, A. Newairy, Protective role of flax lignans against lead acetate induced oxidative damage and hyperlipidemia in rats, *Food Chem. Toxicol.* **47** (2009) 813–818.
- [21] G. Kocić, D. Pavlović, R. Pavlović, G. Nikolić, T. Cvetković, I. Stojanović, R. Kocić, Sodium nitroprusside and preoxy-nitrite effect on hepatic DNases: An *in vitro* and *in vivo* study, *Comp. Hepatol.* **3** (2004) 1–9.
- [22] G. Kocić, P. Vlahović, D. Pavlović, R. Kocić, T. Jevtović, T. Cvetković, I. Stojanović, The possible importance of the cation-binding site for the oxidative modification of liver 5'-nucleotidase, *Arch. Physiol. Biochem.* **106** (1998) 91–99.
- [23] J. Bartholeyns, C. Peeters-Joris, H. Reyckler, P. Baudhun, Hepatic nucleases 1. Method for the specific determination and characterization in rat liver, *Eur. J. Biochem.* **57** (1975) 205–211.
- [24] O.H. Lowrey, N.J. Rosenbrough, A.L. Farr, T. Randall, Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.* **193** (1951) 265–275.
- [25] M.J. Galalipour, D. Rashandel, G. Roshandel, S. Ghafari, M. Kelavi, K. Kalavi, Effect of lead intoxication and d-penicillamine treatment on hematological indices in rats, *Int. J. Morphol.* **24** (2007) 717–722.
- [26] H.T. Tung, F.W. Cook, R.D. Wyatt, P.B. Hamilton, The anemia caused by aflatoxin, *Poul. Science* **54** (1975) 1962–1969.
- [27] L.G.P. Juan, G.R. Guillermo, Acid deoxyribonuclease activity in crude extracts from marine phycophages used for seaweed protoplast isolation, *Sci. Mar.* **58** (1994) 233–236.
- [28] C. Wu, L. Wang, C. Liu, F. Gao, M. Su, X. Wu, F. Hong, Mechanism of Cd<sup>2+</sup> on DNA cleavage and Ca<sup>2+</sup> on DNA repair in liver of silver crucian carp, *Fish Physiol. Biochem.* **34** (2008) 43–51.
- [29] A. Hartwing, R. Schlepegrell, D. Beyersmann, Indirect mechanism of lead-induced genotoxicity in cultured mammalian cells, *Mutat. Res.* **241** (1990) 195–201.

**SUMMARY****MONITORING THE EFFECTS OF EXPOSURE TO LEAD AND CADMIUM IN WORKING AND LIVING ENVIRONMENT THROUGH STANDARD BIOCHEMICAL BLOOD PARAMETERS AND LIVER ENDONUCLEASES ACTIVITY**

Ružica S. Nikolić<sup>1</sup>, Jasmina M. Jovanović<sup>1</sup>, Gordana M. Kocić<sup>2</sup>, Tatjana P. Cvetković<sup>2</sup>, Svetlana R. Stojanović<sup>2</sup>,  
Tatjana D. Anđelković<sup>1</sup>, Nenad S. Krstić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of Science and Mathematics, University of Niš, Niš, Serbia*

<sup>2</sup>*Faculty of Medicine, University of Niš, Niš, Serbia*

(Scientific paper)

Heavy metals as pollutants in the working and living environment are a serious health and environmental problem because they are toxic, non-biodegradable, accumulate in living systems and have a long half-life in soil. Sources of lead contamination are combustion products in the chemical industry and metallurgy, industrial waste water, landfills, traffic etc. Lead enters the body *via* the food chain and drinking water. In the body lead is deposited in the liver, kidneys, brain and mineral tissues. Excretion of lead causes damage to the epithelial cells of certain organs. High level exposure to cadmium is usually the result of environmental pollution by human activities. Exposure to cadmium can lead to acute and chronic tissue damage of various organs, including liver and kidneys in humans and in animals. In this paper we analyzed the effects of lead and cadmium exposure, in working and living environment, on the model system of experimental animals, particularly the activity of certain liver enzymes, acid and alkaline DNase, and standard biochemical blood parameters. The study showed that lead and cadmium significantly affect the protein content, red blood cells, hemoglobin and hematocrit, and the activity of liver enzymes. This harmful effect of this toxic metal can be reduced by the supplements.

**Keywords:** Lead • Cadmium • Toxicity • Hematological parameters • Liver enzymes