

ПРОМЕНЕ У БИОХЕМИЈСКОМ САСТАВУ КРВИ ПРИ АКУТНОЈ ИНТОКСИКАЦИЈИ ПАСА БАКАР-СУЛФАТОМ

Витошевић Б.¹, Косановић К.², Радовић Д.³, Павловић А.⁴, Мирић Д.⁵,
Јовановић П.⁴, Милановић З.³

¹Факултет за физичку културу, Универзитет у Косовској Митровици

²ПМФ, Биологија, Универзитет у Косовској Митровици

³Институт за физиологију, Медицински факултет Приштина, Косовска Митровица

⁴Хируршка клиника, Медицински факултет Приштина, Косовска Митровица

⁵Институт за биохемију, Медицински факултет Приштина, Косовска Митровица

THE CHANGES IN BIOCHEMICAL BLOOD STRUCTURE AS A RESULT OF ACUTE DOG INTOXICATION WITH COPPER SULFATE

Витошевић Б.¹, Косановић К.², Радовић Д.³, Павловић А.⁴, Мирић Д.⁵,
Јовановић П.⁴, Милановић З.³

¹Faculty of Physical education, University of Kosovska Mitrovica

²Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Department of Biology, Kosovska Mitrovica

³Institute of Physiology, Medical faculty Priština, Kosovska Mitrovica

⁴Clinic of surgery, Medical faculty Priština, Kosovska Mitrovica

⁵Institute of Biochemistry, Medical faculty Priština, Kosovska Mitrovica

SUMMARY

It is known that the intoxication with heavy metals and pesticides is most often unmedical poisoning. In contrast to other heavy metals, for example: mercury, lead, cadmium and zinc, toxic copper activity and the mechanism of its effect are not known enough and they are not yet explained. Because of that, the aim of this work was (with acute dog intoxication with copper sulfate) to contribute to better clearing of biochemical mechanism as a result of copper toxic effect and to make analysis of its tissue distribution. Researching was done on adult dogs, both sexes, different races and body mass of 14-20 kg, who were given a 10% water solution of copper sulfate in the dosage of 33mg/b.m. divided into 5 equal doses. The analysis of biochemical blood structure took the following things: total proteins, albumins, globulins, total lipids, cholesterol, glucoze, transaminase (AST,ALT), catalase, peroxidase, vitamin C, proteine SH, the contretation of Cu^{2+} in the serum and the content of Cu^{2+} in the tissues. The results are presented in the charts and graphic presentation. All these changes can be the important directions in an biological monitoring as a biochemical indication of copper pollution in the surroundings.

Key words: Heavy metals, Copper, Toxicity, Dog.

САЖЕТАК

Познато је да су интоксикација тешким металима и пестицидима најчешћа немедикаментозна тровања. За разлику од других тешких метала, нпр. живе, олова, кадмијума и цинка, токсични учинци бакара, као и механизам његовог деловања нису још увек довољно познати и објашњени. Због тога је циљ овог рада био да акутном интоксикацијом паса бакар-сулфатом допринесемо бољем расветљавању биохемијских механизма токсичног деловања бакара и да анализирамо његову ткивну дистрибуцију. Испитивања су вршена на адултним псима, оба пола, различите расе и телесне тежине од 14-20 kg, којима је даван 10% водени раствор бакар-сулфата у дози од 33mg/kg/t.m. подељен у пет једнаких доза. Анализа биохемијског састава крви обухватала је следеће параметре: укупни протеини, албумини, глобулини, укупни липиди, холестерол, глукоза, трансминазе (AST, ALT), каталаза, пероксидаза, витамин Ц, протеински SH, концентрација Cu^{2+} у серуму и садржај Cu^{2+} у ткивима. Резултати су приказани табеларно и графички. Све ове промене могу бити важне смернице у биолошком мониторингу, као биохемијске индикације загађења животне средине бакром.

Кључне речи: Тешки метали, Бакар, Токсичност, Пас.

УВОД

Тешки метали су метали чија је густина већа од 5 g/cm^3 . С обзиром да показују токсичност и у малим концентрацијама, да имају тенденцију акумулације, делимично малу брзину декомпозиције, сврстани су у категорију токсичних супстанци животне средине. Осим неких трансураничних елемената, метали

су увек били унутрашње компоненте земљине коре и као такви постају инкорпорисани и у биохемијске процесе важне за све живе форме. Контаминација металима може настати природно (ерозије, вулканска и термална активност), али још чешће људском активношћу. Управо је антропогена утилизација тешких

метала повећала њихову дистрибуцију, чиме се значајно прелази природна атмосферска емисија одређених тешких метала. Иако се хемијски облици тешких метала могу мењати они нису подложни хемијско-биолошкој деструкцији. То значи да се не могу уништити и да након доспевања у животну средину постају перзистентни полутанти (1).

Бакар спада у групу прелазних метала који се карактеришу променљивом валентношћу и граде јоне са непопуњеном спољашњом електронском орбиталом, што им омогућава учешће у оксидо-редукционим процесима у организму. Значај бакра за животиње експериментално је утврђен 1929.год. (2). Од тада је објављен велики број радова који указују на вишеструку и сложену улогу бакра у промету материја код животиња (3).

Бакар је есенцијална компонента читавог низа металоензима (тирозиназа, цитохром ц оксидаза, плазма моноамино оксидаза, уриказа, лизил оксидаза). Неопходан је у синтези хемоглобина, формирању костију, апсорпцији гвожђа и одржавању мијелина у нервном ткиву. Осим тога, бакар се везује и за антиинфламаторне ефекте кроз метаболизам слободних хидроксилних радикала и контролу нивоа хистамина. Укључен је у метаболизам гвожђа и може играти важну улогу у функцијама имуно-система.

Познато је да како недостатак, тако и вишак бакра у организму доводи до значајних морфолошких и физиолошких промена. Недостатак бакра доводи до анемија, руптуре црвених крвних зрнаца, демјелинације и дегенерације нервних система, поремећаја пигментације у кожи и коси, поремећаја у имуно-систему, интегритету колагена, лошем развоју костију, смањене активности антиоксиданата итд. (4).

Бакар је важан за претварање Т3 у Т4, тако да низак ниво бакра у организму може смањити тироидну функцију.

Анималне студије показују да недостатак бакра доводи до поремећаја у ЦНС-у сличном Паркинсоновој болести, укључујући и симптоме атаксије, тремора и неконтролисаних покрета (5).

Токсични ефекти бакра испољавају се при ендегеним интоксикацијама, код којих је повећана количина бакра у организму резултат метаболичких поремећаја (Вилсонова болест, примарна билијарна холестаза, индијска дечја цироза).

Интоксикацију бакром могу изазвати његова једињења која се користе као фунгициди у пољопривреди и ветеринарској пракси, нарочито у случајевима када се не поштује коренца, односно време које мора протећи од примене пестицида до употребе плода биљака (6).

Контаминација хране, пића, неретко и воде за пиће настаје услед употребе бакарних судова у прехрамбеној индустрији (котлови, цеви, апаратура). Из њих се ослобађају соли бакра које нису јако отровне, али имају непријатан мирис и изазивају повраћање (7). Да би се спречило растварање бакра, обично се бакарни судови калајшу (превлаче слојем калаја).

Експесне концентрације бакра најчешће се јављају у неким пољопривредним земљама у којима се дуги низ година примењивала употреба фунгицида на бази бакра, нпр. у виноградима, где се редовно за прскање примењује бордовска чорба (раствор плавог камена). У таквим земљиштима може се наћи од 150 до 400 ppm бакра (8). Понекад чак и вино садржи мале количине бакра.

Степен апсорпције зависи од укупно унете количине бакра, његове хемијске форме и количине других минерала и органских супстанци присутних у храни.

Бакар се дистрибуира у јетру, бубреге, мозак, мишиће, срце, коштану срж и еритроците. У јетри се налази везан за металотионеин, металоензиме и хумани протеин за бакар. Када бакар уђе у плазму, везује се за церулоплазмин као и за неке аминокиселине нарочито хистидин и серум-албумин. У крви се чак 90-95% бакра везује за церулоплазмин. Апсорбовани бакар из циркулације одстрањује јетра. Јетра обрађује бакар на два начина. Први је да се бакар излучује путем жучи у гастроинтестинални тракт из којег се не ресорбује. Управо ово излучивање у жучи одржава хомеостазу бакра. Други пут метаболизма бакра у јетри је његово уграђивање у церулоплазмин, гликопротеин који се синтетише само у јетри, али није транспортни протеин јер не размењује Cu^{2+} са јоном бакра или бакром везаним за друге молекуле (10).

Већа концентрација бакра изазива тешка оштећења јетре, а главне интрацелуларне мете су митохондрије при чему настају функционалне абнормалности митохондрија удружене са липидном пероксидацијом и морфолошким променама (плеоморфизам, елонгација, дилатација и дегенеративне промене), а може доћи и до редукције целуларног АТП, лизозомалне фрагилности, оштећења хомеостазе целуларног Ca^{2+} и оштећења ДНК у јетри (11,12,13).

Бакар може индуковати васкуларно ендотелно оштећење, оштећење бубрега са озбиљним поремећајем реналне функције, хемолизу еритроцита, атрофичне промене у коштаном ткиву, неуролошке промене итд. (14,15,16).

Најчешћи антидоти који се користе у хуманој медицини приликом интоксикација бакром и његовим једињењима су CaNa_2EDTA (калцијум-ди-натријум едетат), BAL (димер-капрол) и Д-Пенициламин.

ЦИЉ РАДА

Имајући у виду да токсични учинци бакра, као и механизам његовог деловања, у науци нису још довољно познати и објашњени, циљ нашег истраживања је био да проучимо:

1. Утицај бакар-сулфата на ниво укупних протеина, албумина и глобулина у серуму (протеински профил серума) експерименталних животиња,
2. Дејство бакар-сулфата на концентрацију укупних липида и холестерола у серуму,
3. Утицај бакар-сулфата на метаболизам угљених хидрата (концентрацију глукозе у се-руму),

4. Утицај бакар-сулфата на биохемијске параметре антиоксидативног система у серуму експерименталних животиња, пре свега на активност трансминаза, каталазе, пероксидазе, садржај протеинског SH и витамин Ц,

5. Вредности концентрације бакра у серуму и ткивима (срце, дијафрагма, скелетни мишић, бубрези, јетра), као крајњим таргетима акумулације бакра.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Истраживања су вршена на адултним псима (*Canis familiaris*), оба пола, различите расе и телесне тежине од 14-20 kg.

У свим експерименталним групама је било по 12 животиња. Артеријска крв за анализу биохемијских параметара узимана је појединачно од сваке животиње пре и после апликације бакар-сулфата у тачно одређеним временским интервалима (5, 10, 15, 20, и 25 минута). Све животиње су након увођења у анестезију првих 10 минута третиране 0,9% NaCl у спорој инфузији, да би се хемодинамски стабилизовале. На крају третирања са 0,9% NaCl, регистрован је ЕКГ, фреквенца, крвни притисак и узимана је крв за биохемијске параметре, који су служили као базалне вредности на основу којих је вршено упоређивање касније регистрованих варијабли. Бакар-сулфат у 10% воденом раствору даван је псима у дози од 33mg/kg/t.m., подељен у 5 једнаких доза. Ове појединачне дозе од 6,6mg/kg/t.m. даване су и.в. болус ињекцијом на сваких 5 минута. По истеку тог времена, а пре давања следећег болуса, регистроване су хемодинамске варијабле, узимана крв за биохемијске параметре.

Биохемијске анализе рађене су следећим лабораторијским методама:

- Укупни протеини у серуму одређивани су биуретском методом (17),
- Албумини су одређивани методом са бромкрезол зеленим (BCG)(18),
- Концентрација укупних глобулина израчунана је на основу разлике укупних протеина и албумина за дотични серум,
- Укупни липиди су мерени помоћу колориметријске методе са фосфо-сулфо-ванилином (19),
- Холестерол је рађен колориметријском методом по Хуангу (20),
- Глукоза је одређена колориметријском ензимском GOD-РАР методом (21),
- Трансминазе серума одређене су колориметријском методом завршне тачке (22),
- Каталитичка активност каталазе одређена је колориметријском методом завршне тачке по Ко рољуку (23),
- Пероксидаза је рађена колориметријском методом у присуству пирогалола (24),
- Витамин Ц (аскорбат и дехидроаскорбат) рађен је по колориметријској методи са 2,4 динитрофенил хидразином (25),
- Концентрација Cu^{2+} у серуму одређивана је

колориметријском методом са ди-бр. PAESA као хромогеном (26),

- Концентрација Cu^{2+} у ткивима (јетра, срце, дијафрагма, скелетни мишић, бубрег) одређена је киселом дигестијом сувог ткива, а читавање је вршено на Unicam 929 Atomic Absorption Spectrometer-у (27).

Након урађених биохемијских анализа, да би се проверило да ли је учинак CuSO_4 последица патофизиолошке реакције ткива експерименталних животиња или су измерене промене последица интерференције CuSO_4 са реагенсима који се користе за одређивање тих биохемијских варијабли, урађен је *recovery*-поступак.

Пулираном серуму контролних животиња са почетном вредношћу бакра од 14,7 $\mu\text{mol/l}$ додаван је раствор бакра концентрације 10 $\mu\text{mol/l}$, све до крајњих вредности које су добијене из серума контролних животиња (557,9 $\mu\text{mol/l}$). Из оваквог серума (после стајања од 30-60 мин. на собној температури) рађене су анализе.

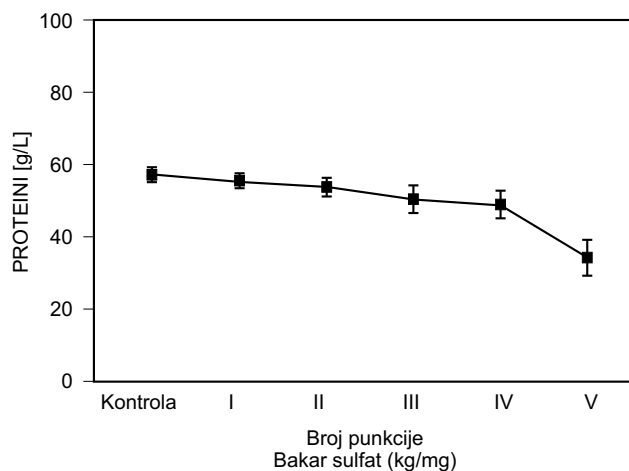
Резултати експеримента израчунавани су као средња вредност стандардна грешка, а студентов т-тест је употребљен за одређивање статистичке "значајности" разлике између контролних вредности и вредности у експерименталним условима.

За тестирање статистичке значајности нивоа промена између група (у блоку) коришћена је анализа варијансе, а после ове процедуре разлике између група утврђене су Tukey-овим тестом.

РЕЗУЛТАТИ

1. Утицај бакар-сулфата на ниво укупних протеина, албумина и глобулина у серуму (протеински профил серума)

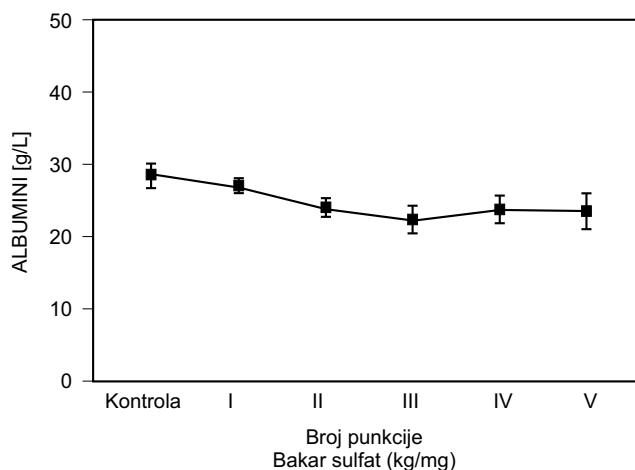
Вредности укупних протеина, изражене у су представљене на графикону 1. Средња вредност укупних протеина серума контролне групе износи 57,08 g/l. У току интоксикације укупни протеини благо падају (хипопротеинемија), све до 20-е минуте, када је



Графикон 1. - Вредности концентрације укупних протеина пре и после расипућих доза CuSO_4

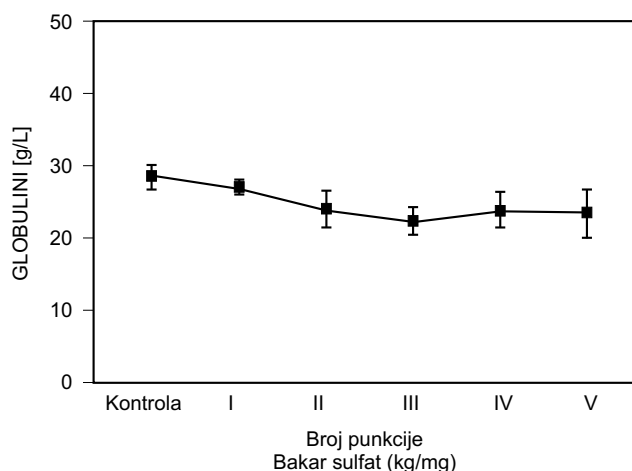
њихов пад прогресиван и статистички значајан ($p < 0,01$).

На графикону 2 приказан је садржај албумина (g/l) у серуму контролних и интоксицираних животиња. Почетне дозе бакар-сулфата (6,6 одн. 13,2 mg/kg) не утичу битно на вредности концентрације албумина, док веће дозе доводе до њиховог значајног и статистички сигнификантног пада ($p < 0,001$).



Графикон 2. - Вредности концентрација албумина (g/l) у експерименталних њаса пре и после администрације растућих доза $CuSO_4$

Вредности концентрација глобулина у серуму контролних и огледних животиња приказани су табеларно и графички (графикон 3). Апликација бакар-сулфата је проузроковала мали пад концентрације глобулина у серуму који није сигнификантан, после дозе од 19,8 mg/kg, а при већим дозама вредности концентрације глобулина се нису значајно мењале.



Графикон 3. - Вредности концентрације глобулина (g/L) у експерименталних њаса пре и после администрације растућих доза $CuSO_4$ у функцији времена.

Анализа протеинског профила серума показује смањење нивоа укупних протеина, концентра-

ције албумина и глобулина. Сличан тренд измене укупних протеина серума нађен је код радника хронично интоксицираних оловом, а и у експерименталним интоксикацијама различитих животиња нпр. зечева, лабораторијских пацова, мајмуна, риба и др. (28). Аналогна хипопротеинемија забележена је у шкољкама загађеног залива Тиренског мора. Смањење количине укупних протеина се може вероватно објаснити на два начина:

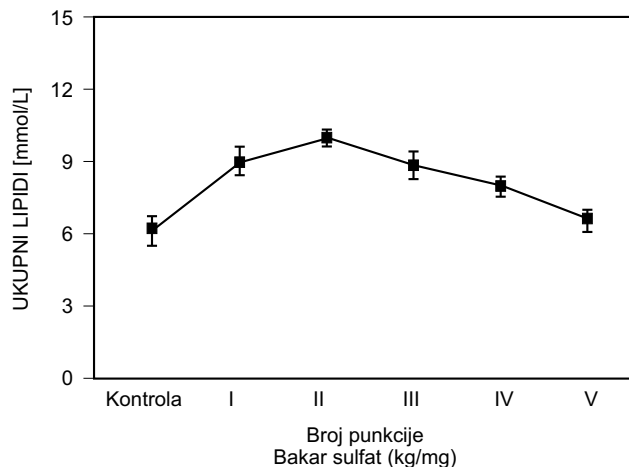
1. Базирано је на сниженој синтетској способности јетре у погледу стварања укупних протеина (практично сви албумини и 50% глобулина стварају се у јетри) или

2. Оно је знак повишеног разлагања протеина. С друге стране хипопротеинемија може бити одраз нарушавања метаболизма протеина.

2. Утицај бакар-сулфата на концентрацију укупних липида и холестерола у серуму

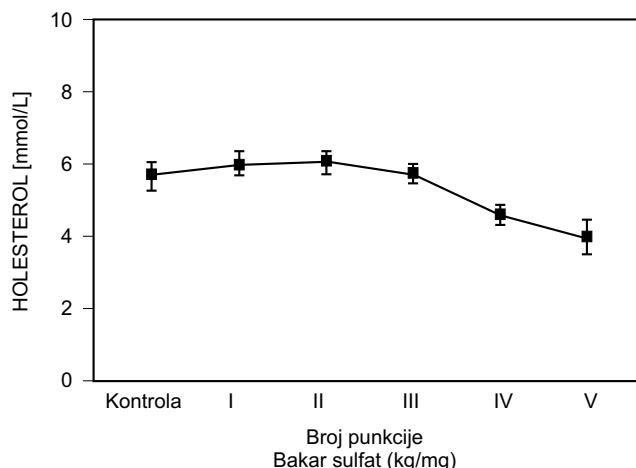
Промене концентрације укупних липида у серуму контролних и интоксицираних животиња приказане су на графикону 4.

Администрација првих доза бакар-сулфата (6,6 одн. 13,2 mg/kg) довела је до пораста вредности укупних липида (9,58 g/l), што је за 60,03% више у односу на почетну вредност. Даљим третирањем вредност укупних липида пада.



Графикон 4. - Вредности концентрације укупних липида (mmol/L) у експерименталних њаса пре и после администрације растућих доза $CuSO_4$ у функцији времена.

Просечна вредност холестерола контролне групе износила је 5,70mmol/l (графикон 5). Почетне дозе бакар-сулфата од 6,6 одн. 13,2mg/kg имале су за последицу благи пораст вредности холестерола у односу на иницијалну вредност, који није статистички значајан. При уношењу већих доза $CuSO_4$ (19,8; 26,4; 33,0 mg/kg), вредности концентрације холестерола су рапидно падале ($p < 0,01$).

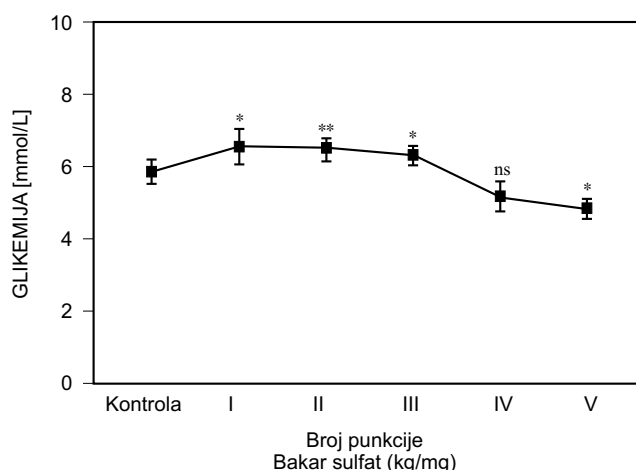


Графикон 5. - Вредности концентрација холестерола (mmol/L) у експерименталних њаса пре и после администрације растућих доза $CuSO_4$ у функцији времена.

Пораст нивоа укупних липида је вероватно последица липолитичке активности бакар-сулфата. Благи пораст холестерола при администрацији сублеталних доза слаже се са подацима из литературе, мада постоје и подаци из експеримената са популацијама корњача из непосредне околине Косовске Митровице, код којих је концентрација укупних липида била сигнификантно нижа у односу на вредности нађених код корњача незагађеног региона (29,30).

3. Утицај бакар-сулфата на метаболизам угљених хидрата одн. на ниво гликемије

Администрација бакар-сулфата у дози од 6,6 mg/kg је довела до статистички значајног ($p < 0,05$) повећања садржаја глукозе у крви на 6,70 mmol/l. Хипергликемијски ефекат присутан је и при знатно већим дозама (13,2 и 19,8 mg/kg), док је после следеће



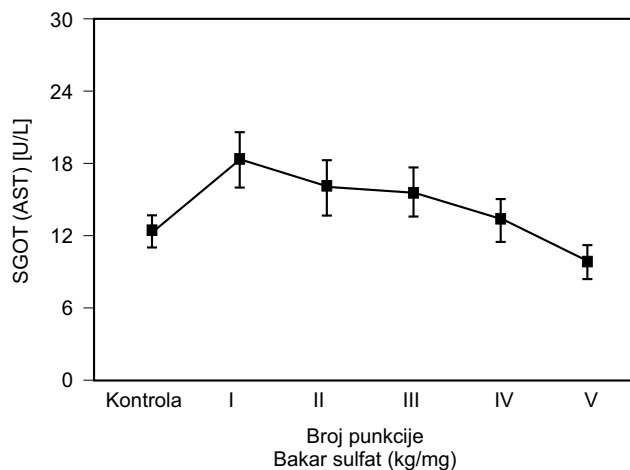
Графикон 6. - Вредности гликемије (mmol/L) у експерименталних њаса пре и после администрације растућих доза $CuSO_4$ у функцији времена.

администрације концентрација глукозе у крви падала до вредности од 5,02 mmol/l, што је 15,45% мање у односу на почетну вредност (графикон 6).

Хипергликемија која је настала након сублеталних доза бакар-сулфата је вероватно резултат поремећаја оксидације глукозе тј. смањења њене потпуне оксидације као и појачаног процеса гликогенолизе услед стресног стања који прати интоксикацију. Експериментално је потврђено да и други тешки метали (олово, цинк) имају такође хипергликемијски ефекат, вероватно због њиховог деловања на различите ензиме који катализирају глукозу (31). Једнократна интраперитонеална ињекција бакар-сулфата (10 mg/kg/t.t.) 45 минута после примене има за последицу хипергликемију и смањење садржаја укупног гликогена у јетри пацова (32). Изгледа да бакар стимулише метаболичке процесе гликогенолизе, што резултира порастом глукозе у крви.

4. Утицај бакар-сулфата на активност трансаминаза (AST, ALT), каталазе, пероксидазе, садржај протеинског SH и укупног витамина Ц

Каталитичка вредност AST (U/L) приказана је на графикону 7. Вредност добијена након апликације прве дозе бакар-сулфата од 6,6 mg/kg већа је у односу на контролну за 47,97%, док је у даљем току интоксикације постепено падала и на крају износи 9,83 U/L, што је за 20,27% мање у односу на почетну вредност.

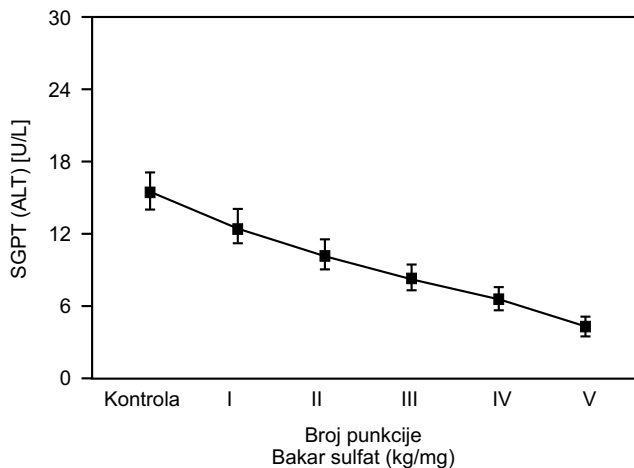


Графикон 7. - Вредности каталитичке активности SGOT (AST) (U/L) у експерименталних њаса пре и после администрације растућих доза $CuSO_4$ у функцији времена.

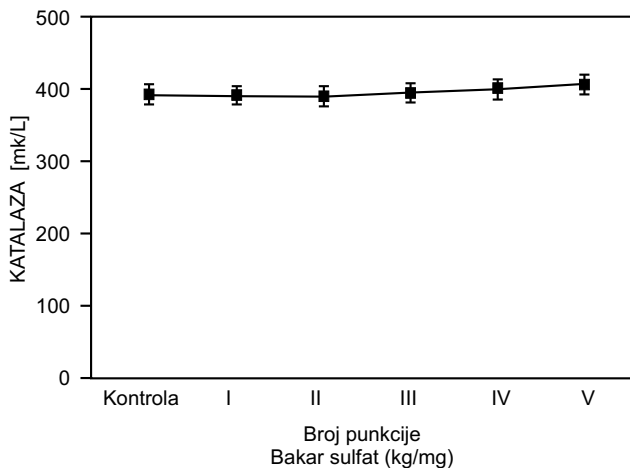
У динамици промене каталитичке активности ALT (U/L) присутан је линеаран пад вредности у функцији времена.

Трансаминазе, аспартат-аминотрансфераза (AST) и аланинаминотрансфераза (ALT), катализују интерконверзију аминокиселина и алфа-оксо-киселина путем преноса аминокиселинских група. ALT је локализо-

вана углавном у цитоплазми ћелија, док је AST присутна и у цитоплазми (30-40%) и у митохондријама (60-70%). ALT се сматра ензимом "специфичним" за јетру, јер су хепатоцити знатно богатији овим ензимом него ћелије других органа, па и код релативно малог оштећења ткива излази у циркулацију, услед нарушавања функционалног интегритета ћелијских мембрана. Међутим обе трансминазе су вероватно



Графикон 8. - Вредности каталитичке активности SGPT (ALT) (U/L) у експерименталних њаса пре и после администрације растућих доза $CuSO_4$ у функцији времена.



Графикон 9. - Вредности каталитичке активности каталазе (mk/L) у експерименталних њаса пре и после администрације растућих доза $CuSO_4$ у функцији времена.

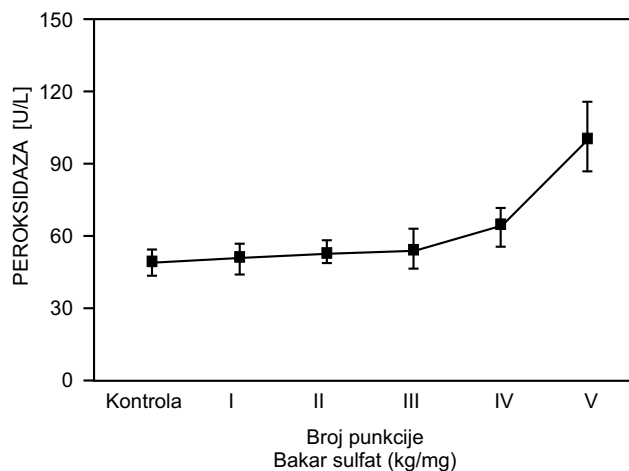
инактивисане од стране јона бакра, јер је бакар ирверзибилни неспецифични инхибитор ензима. Ове промене су потврђене и у експерименту "in vitro". У литератури, у експериментима са пацовима третираним оловоацетатом, у хемолимфи пужева и серуму корњача контаминираних подручја, констатована је повећана каталитичка активност трансминаза (33).

Када је реч о антиоксидативним ензимима, типа каталазе и пероксидазе, треба истаћи да су они

врло осетљиви на интоксикације и загађења. На пример, смањена активност ензима пероксидазе код риба трованих пестицидима узима се као тест снижавања општег нивоа метаболизма.

Каталитичка активност каталазе (mk/L) се није битно мењала при интоксикацији паса бакар-сулфатом у односу на контролу третираних физиолошким раствором NaCl на исти начин и у истој запремини течности (графикон 9).

За разлику од каталазе активност пероксидазе расте и на крају периода праћења је скоро двоstrуко већа што указује на њен већи капацитет у антиоксидативној заштити ($r=0,25$; $p<0,05$), односно накнадну реакцију целог организма на интоксикацију. Констатована је значајна позитивна корелација концентрације бакра са пероксидазом. Ово потврђује мишљење да антиоксидативни ензими типа каталазе и пероксидазе имају кључну улогу у енергетском метаболизму. Испитивања показују да недовољна активност једног од антиоксидативних ензима може бити компензован повећаном активношћу других антиоксидативних ензима што је нарочито изражено код неких птица и сисара (34).

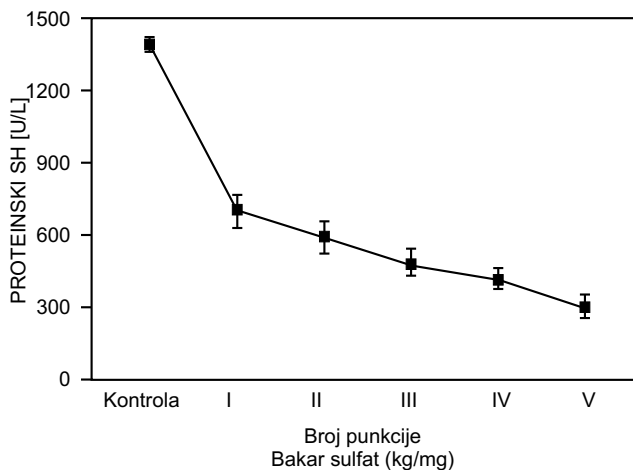


Графикон 10. - Средње вредности каталитичке активности пероксидазе (U/L) у експерименталних њаса пре и после администрације растућих доза $CuSO_4$ у функцији времена.

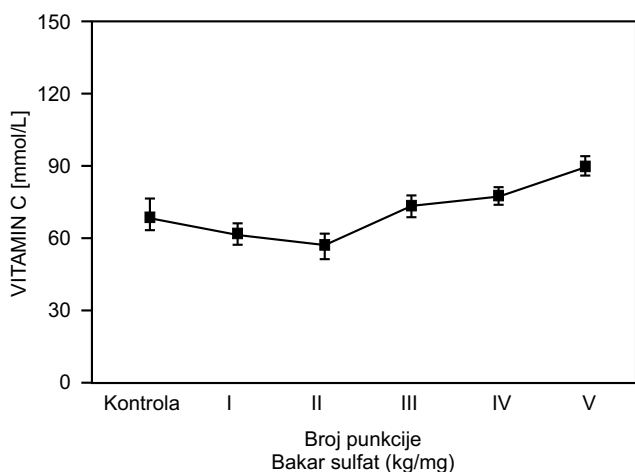
Тешки метали се као што је познато не метаболизују у организму већ се у њему задржавају и везују са једном или више реактивних група (лиганди). За бакар је карактеристично да се везује за протеине са SH (тиолном) групом. Ово је евидентно у анализи концентрације протеинског SH у серуму, где одмах након администрације првих доза бакар-сулфата долази до њиховог наглог пада линеарном регресијом (статистички значајан пад, $p<0,001$), због везивања за јон бакра. Овај пад протеинског SH у складу је са наводима из литературе (35).

Аскорбинска киселина је главни чинилац ендегене антиоксидативне заштите телесних течности. Након давања бакар-сулфата, њена вредност

опада, што говори о њеном интензивном утрошку од стране ткива и ћелија у циркулацији у одговору на интоксикацију. Веће концентрације бакар-сулфата доводе до раста аскорбинске киселине, што потврђује њено активно учешће у антиоксидативној заштити организма (графикон 12).



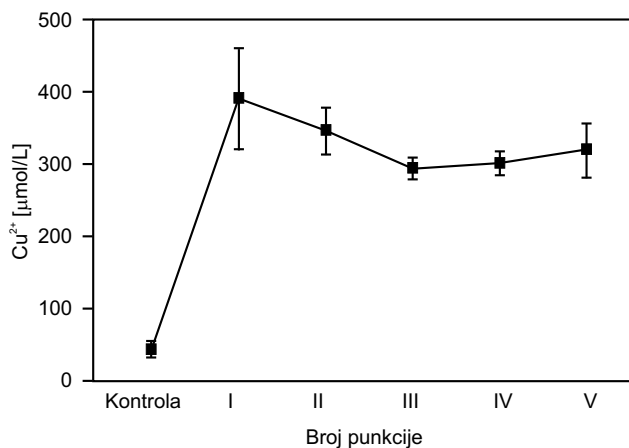
Графикон 11. - Вредности концентрације протеинског SH (U/L) у експерименталних њаса пре и после администрације растућих доза CuSO_4 у функцији времена.



Графикон 12. - Средња вредности концентрације витаминског Ц у експерименталних њаса пре и после администрације растућих доза CuSO_4 у функцији времена.

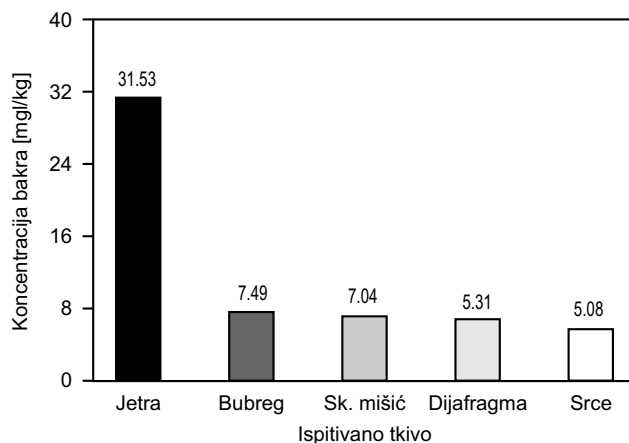
5. Садржај бакра у серуму и ткивима огулених животиња

Концентрација бакра у серуму се нагло повећала након првог давања дозе од 6,6mg/kg (377,90 $\mu\text{mol/l}$, $p < 0,001$). Овако висока концентрација Cu^{2+} у серуму се одржавала током читавог тока интоксикације, без неких већих флукуација вредности у односу на почетну дозу. Серумски ниво бакра је од помоћи за тумачење вредности биохемијских параметара, али не одражава у потпуности везу између њих, с обзиром да Cu^{2+} има особину везивања за протеине плазме (графикон 13).



Графикон 13. - Вредности концентрације Cu^{2+} ($\mu\text{mol/L}$) у експерименталних њаса пре и после администрације растућих доза CuSO_4 у функцији времена.

Мерењем количине бакра у ткивима, наши резултати показују да је највећа концентрација бакра у јетри, затим следе бубрези, скелетни мишићи, дијафрагма и срце (графикон 14).



Графикон 14. - Садржај Cu^{2+} у испитиваним ткивима након акутне интоксикације њаса.

Јетра је главни орган биотрансформације многих ксенобионата и она садржи високе концентрације ензима за метаболизацију односно биотрансформацију. Због двоструког снабдевања крвљу из хепатичне артерије и порталне вене, јетра се излаже дејству токсиканата унетих и инхалацијом и апсорбованих преко гастроинтестиналног тракта, а пропустљив капиларни систем хепатичних синуса доприноси бољој екстракцији токсиканата из крви у јетру.

Поред јетре, која је главни и највећи депонент токсичних материја, у мањој мери и у бубрезима се врши биотрансформација хемијских агенаса. Њихова функција састоји се у филтрирању, концентровању и елиминисању токсиканата који се најчешће концентрују у реналним, тубуларним ћелијама и изазивају њихово оштећење.

Наши резултати о садржају бакра у појединим ткивима су у сагласности са наводима из литературе (36,37).

Мишљења смо да је биохемијска индикација, као једна од најранијих индикација оштећења организма, данас све значајнија не само с аспекта спознаје финих биохемијских механизма токсичног деловања одређеног хемијског једињења, већ и са практичног аспекта у смислу израде мониторинг система.

ЗАКЉУЧАК

На основу наших резултата истраживања могу се донети следећи закључци:

1. Протеински профил серума под утицајем сублеталних доза бакар-сулфата показује пад укупних протеина, албумина и глобулина, вероватно услед формирања комплекса са јоном бакра.

2. Повећана концентрација холестерола и укупних липида у серуму интоксигираних животиња настају услед липолитичке активности бакар-сулфата.

3. Сублеталне дозе бакар-сулфата проузрокују хипергликемију која настаје као резултат поремећаја оксидације глукозе.

4. Бакар као иреверзибилни неспецифични инхибитор ензима, инактивише трансминазе у серуму,

- Каталитичка активност пероксидазе је већа у односу на каталазу, што указује на њену већу улогу у антиоксидативној заштити,

- Концентрација протеинског SH у серуму нагло опада услед везивања за јон бакра и стоји у значајној негативној корелацији у односу на вредности Cu^{2+} у серуму,

- Аскорбинска киселина (Витамин Ц) умерено учествује у ендогеној антиоксидативној заштити,

5. Концентрација Cu^{2+} у серуму вишеструко се увећава у односу на физиолошку вредност,

- Највећа количина Cu^{2+} је измерена у ткиву јетре, а затим следе бубрези, скелетни мишић, дијафрагма и срце.

Све ове промене могу бити важне смернице у мониторинг систему загађивања животне средине тешким металима, односно могу бити укључене у биолошки мониторинг, као биохемијске индикације загађења животне средине бакром.

ЛИТЕРАТУРА

- Vidaković A.: Medicina rada, Institut za medicinu rada i radiološku zaštitu "Dr Dragomir Karajović" Beograd, 722-731, 1997.
- Jovanović M. "Fiziologija domaćih životinja" Medicinska knjiga, Beograd-Zagreb, 1984.
- Abu-Damir H, Eldirdir Ni, Adam S.E.Howarth J.A., Salih, Ymidris O.F.: "Experimental copper poisoning in the camel (Camelus dromedarius)" J-Comp-Pathol. 108;191-208, 1993.
- Olivares M, Uauy R "Copper as an essential nutrient" Am J Clin Nutr., 63:791s-796s, 1996.
- Wapnir RA "Copper absorption and bioavailability" Am J Clin Nutr., 67:5:1054s, 1998.
- Marković A.D, Đormati AŠ, Gržetić A i Veselinović SD "Fizičko-hemijski osnov zaštite životne sredine" knjiga 2, izvori, zagađenja i posledice; Univerzitet Beograd, 1996.
- Spitainy KC, Brondum J, Vogt RL et al: "Drinking water induced copper intoxication in a Vermont family", Pediatrics:74, 1984.
- Radonjić S, Markišić X "Enciklopedijski rečnik ekologije i zaštite životne sredine" NJP "Pobjeda" Podgorica, 1996.
- World Health Organization "Recommended health-based limits in occupational exposure to heavy metals" Geneva, 1989.
- Harperov pregled Biohemije (treće izdanje), Martin DW, Mayes PA, Rodwell VW, graner DK, Savremena Administracija, Beograd, 1992.
- Sternlieb I, Quintana N, Volenberg I, Schilsky ML: "An array of mitochondrial alterations in the hepatocytes of Long-Evans Cinnamon rats" Hepatology, 22(6):1782-7, 1995.
- Sugawara N, Li D, Sugawara C, Miyave H.: "Response of hepatic function to hepatic copper deposition in rats fed a diet containing copper", Biol-Trace Elem-Res; 49(2-3):161-9, 1995.
- Stohs SJ, Bagchi D: "Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions" Free-Radic-Biol-Med.18(2); 321-36, 1995.
- Evering W.E, Haywood S, Bremner I, Trasford J: "The protective role of metallothionein in copper overload: Differential distribution of immunoreactive metallothionein in copper-Loaded rat Liver and Kidney" Chem-Biol-Interact, 78(3):283-95, 1991.
- Kozuka H. "Interactive exhibition of heavy metal toxicity in bone metabolism. From the viewpoint of deductive toxicology", Yakugaku-Zasshi, 115(3); 157-69, 1995.
- Walch M, Crosson FJ, Bayley M: "Acute copper intoxication" Am J Dis Child; 131: 149-151, 1977.
- Richterich R. Colombo J.P.: "Klinische Chemie", vol.4, 319. Ed. Karger, S Basl, Munchen, Paris, London New York, 1978.
- Doumas B T, Watson W.A, Biggs H.G: "Albumin standards and the measurement of serum albumin with Bromcresol Green" Clin Chem Acta, 31, 87-96, 1971.
- Zollner N., Kirsch K, Gess Z: Exp. Med.135;545, 1962.
- Huang TC, Chen CP, Wefler V, Raffery A: "Anal Chem, 33: 1405, 1961.
- Trinder D.: Ann Clin.Biochem.6, 24, 1969.
- Reitman S, Frankel S: "A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases" Am J Clin Path 28:55-58, 1957.
- Koroljuk MA, Ivanova LI, Mairova JG, Tokarev VE: "Metod o predelenia aktivnosti katalazi" Lab-Delo, 1:16-9, 1988.
- Henning Norbert Urban & Schwarzenberg "Klinische Laboratoriumsdiagnostik", Munchen-Berlin-Wien, 1966.
- Mc Cormick D.B Vitamins Textbook of Clinical Chemistry N.W. Tietz, Ed, W.B.Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, 927, 1986.
- Abe A., Yamashita S, Al Sensitive, "Direct Colorimetric Assay for copper serum" Clin.Chem.35,552, 1989.
- U.S.EPA, National Environmental Publications: Methods for Determination of Metals in Environmental Samples, U.S. Environmental Protection Agency, Washington DC, EPA/600/4-91-010, 1991.
- Maksimović-Đekić "Neke biohemijske promene u krvi pacova akutno trovanih olovom" Arh.Toxicol.Kinet Xenobiot Metod 6/3, VII Congres of the toxicologists of Yugoslavia, 1998.
- Rozhaja, D.A.: "Total blood serum lipids and cholesterol of laboratory rats exposed to industrial pollutants" Acta Biol. Med. Exp., 4:93, 1979.
- Rozhaja, D.A., Dermaku S, Halili F: Biochemical character-

- ristics of the turtle from the immediate surrounding of lead and zinc, Zvecan", *Acta.Biol.Med.Exp.*5:43, 1980.
31. Momčilović, B "Metabolizam olova s posebnim osvrtom na problem izloženosti stanovništva" *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, Vol.24, 1973.
 32. Medenica, S "Uticaj hipotermije i bakra na glikemiju i sadržaj glikogena u jetri pacova", *Diplomski rad*, 1997.
 33. Metelov, B.B "Metodika opredelenia toksikozov po peroksidnoj aktivnosti krovi" *Nauka, Moskva*, s73, 1971.
 34. Petrović M.V, Žikić R., Milić B, Saičić Z. i Spasić M. "Uporedno proučavanje protektnih enzima u nekih vrsta kičmenjaka" *VII Kongres biologa Jugoslavije-izvodi, saopštenja*, 6-22,305, 1986.
 35. Alam, M.K., Maughan O.E., Acute toxicity of heavy metals to common carp", *J. Environ. Sci. Health. A30*, 8 : 1807-1816, 1995.
 36. Bires J., Maracek I., Bartko P., Biresova M., Weissova T.: "Accumulation of trace elements in sheep and the effects upon quantitative ovarian changes" *Vet-Hum-Toxicol*, 37(4); 349-56, 1995.
 37. Krupicer I., Velebny S., Legath J.: "The effect of emissions from a mercury-processing metallurgy plant on the intensity of experimental fasciola hepatica in sheep" *Vet-Med-Praha*; 41(4): 103-6, 1996.