

## Biomonitoring Cd, Pb, Cu i Zn u krvi djece predškolskog uzrasta u Podgorici

Boban Mugoša\*, Dijana Đurović\*, Aleksandar Vujačić\*, Aleksandra Pirnat\*, Mara Džomić†, Nebojša Kavarić†.

1. Institute of public health of Montenegro Podgorica, Montenegro  
2. JHealth Center Podgorica, Podgorica, Montenegro

Corresponding author

Boban Mugoša,

Institute of public health of Montenegro,

Džona Džeksona bb, Podgorica, Montenegro,

Phone: +382(0)67670192

e-mail:boban.mugosa@ijzcg.me



### Abstrakt

**Uvod:** Biomonitoring elemenata u tragovima u krvi se pokazao kao odlično sredstvo za procjenu zdravlja djece pod uticajem životne sredine. Djeca kao najosjetljivija grupa ljudske populacije su senzibilna na promjene u životnoj sredini, kao i na prisustvo raznih zagađivača.

**Cilj rada:** Cilj ovog rada je da se prikaže sadržaj Pb, Cd, Cu i Zn u krvi djece predškolskog uzrasta iz nekoliko vrtića u Podgorici, primjenom savremenih tehnika, ICP-OES i GFAAS.

**Materijal i metode:** Uzorkovanje 66 uzoraka krvi zdrave djece sprovedeno je u periodu jun-septembar 2013. godine. Uzorci krvi su pripremani metodom mikrotalasne digestije, nakon čega je sadržaj Pb, Cd, Cu i Zn je određen primjenom GFAAS i ICP-OES tehnika.

**Rezultati:** Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je sadržaj Pb i Cd u ispitivanim uzorcima krvi djece predškolskog uzrasta bio ispod LoQ (limita kvantifikacije), dok je sadržaj Cu i Zn bio u granicama propisanim za taj uzrast. Nije nađena statistički značajna povezanost koncentracija Zn i Cu u krvi dječaka, dok je u uzorcima krvi kod djevojčica nađena statistički značajna visoka povezanost između izmjerenih koncentracija Zn i Cu, pri čemu povećanu koncentraciju Zn u krvi prati povećana koncentracija Cu.

**Zaključak:** Dobijeni podaci ukazuju da za sada ne postoji negativan uticaj životne sredine na zdravlje djece, s obzirom na to da su ispitanici iz Podgorice gdje je izražen najveći stepen urbanizacije i saobraćaja. Međutim, treba naglasiti činjenicu da se radi o pilot-prijektu u kom je obuhvaćen mali broj ispitanika, te pomenuta istraživanja treba nastaviti i proširiti na cijelu Crnu Goru.

## Biomonitoring of Cd, Pb, Cu and Zn in pre-school children's blood in Podgorica

**Introduction:** Biomonitoring of trace elements in blood has become an important tool for assessing children's environmental health. Children as the most vulnerable group of population are sensitive to changes in the environment as well as the presence of various contaminants.

**Aim of the work:** The aim of this study is to show Pb, Cd, Cu and Zn content in pre-school children's blood from several kindergarten in Podgorica using some of the modern technique such as ICP-OES and GFAAS.

**Material and methods:** Sampling of 66 blood samples from healthy children was conducted in the period June-September 2013 year. Blood samples were prepared by microwave digestion, and concentrations of Pb, Cd, Cu and Zn were determined using GFAAS and ICP-OES technique.

**Results:** Results showed that the content of Pb and Cd in the tested blood samples was below the LOQ (limit of quantification), while the content of Cu and Zn were within the prescribed limits. There was no statistically significant correlation between the concentration of Zn and Cu in boy's blood, while girl's blood samples showed statistically significant high association between measured concentrations of Zn and Cu.

**Conclusion:** There is no negative impact of the environment on children's health, although the respondents were from Podgorica, where is urbanization and traffic on a very high level. However it should be noted that this is a pilot project and small number of respondents were included, thus this research should be continued and extended to all cities of Montenegro.

**Key words:** Environmental health, Child Behavior, Blood Chemical Analyses, Health Cate Evaluatiom Mechanisms.

## Uvod

Biomonitoring elemenata u tragovima u krvi se pokazao kao odlično sredstvo za procjenu rizika po zdravlje djece pod uticajem životne sredine<sup>1</sup>. Djeca spadaju u osjetljivu populaciju i mnogi zagađivači iz životne sredine mogu uticati na njihovo zdravlje. Mnogi polutanti, među kojima su i metali djeca mogu unositi u organizam na tri načina: ingestijom, inhalacijom i dermalnim putem<sup>2</sup>. Metali koji se najčešće određuju u okviru biomonitoringa u krvi su Pb, Cd, Zn, Se i Hg. U mnogim zemljama za većinu metala su definisane i publikovane kako analitičke metode tako i referentne vrijednosti<sup>1</sup>.

Elementi u tragovima su mikronutrijenti prisutni u malim količinama u organizmu i esencijalni za održavanje normalnih fizioloških funkcija<sup>3</sup>. Mnogi neesencijalni elementi su rasprostranjeni u životnoj sredini tako da se mogu lako naći i detektovati u ljudskom tkivu i tečnostima. Neki su uglavnom benigni, ali neki kao Pb i Cd se smatraju izuzetno toksičnim kada se nađu čak i u tragovima. Ipak, treba istaći da svi elementi, čak i esencijalni, mogu ispoljiti toksični efekat ukoliko su prisutni u kritičnim koncentracijama, tj. većim od dozvoljenih<sup>4</sup>.

U posljednjih nekoliko godina značaj prisustva elementa u tragovima je izuzetno porastao, jer se na osnovu njihovog sadržaja može procijeniti zdravstveno stanje kako djece tako i odraslih osoba<sup>5</sup>. Za cink i bakar je poznato da su bitni elementi u tragovima u ljudskom tijelu. Cink ulazi u sastav preko 300 enzima koji koriste cink kao kofaktor u mnogim metaboličkim procesima. Posebno je značajan za rast i razvoj mladog organizma. Bakar je izuzetno bitan za enzimsku aktivnost, pri čemu učestvuje kao kofaktor u enzimskim reakcijama, uključujući citohrom C oxidaze, lizil oxidaze, superoxid dizmutaze i tirozinaze<sup>6</sup>.

Cilj ovog rada je da se prikaže sadržaj Pb, Cd, Cu i Zn u krvi djece predškolskog uzrasta iz nekoliko vrtića u Podgorici, primjenom savremenih tehnika, ICP-OES i GFAAS. Na osnovu dobijenih podataka o sadržaju ispitivanih elemenata u tragovima u krvi, izvršiće se procjena zdravstvenog stanja djece i dati procjena uticaja zagađivača iz životne sredine na zdravlje ispitanika.

## Materijal i metode

Ovo istraživanje je obuhvatilo 66 djece predškolskog uzrasta iz nekoliko vrtića, koji žive na teritoriji grada Podgorice. Roditelji djece učesnika u ovom istraživanju su bili detaljno informisani o samom projektu i dali pismenu saglasnost za učešće njihove djece. Uzorci venske krvi kod 66 zdrave djece, 36 dječaka i 30 djevojčica, su uzeti u peridu od juna do septembra 2013. godine. Po 5 ml krvi je uzorkovano u plastičnim epruvetama sa heparinom kao antikoagulansom. Svi uzorci krvi su skladišteni nakon uzorkovanja i čuvani na temperaturi od 4°C i analizirani u roku od 5 dana nakon uzimanja. Uzorci krvi su držani na sobnoj temperaturi 2 sata prije početka pripreme za analizu. Prije početka analize svaki uzorak krvi je homogenizovan. 1.5 ml krvi je razaran postupkom mikrotalasne digestije (ETHOS 1) sa 7 ml azotne kiseline i 2 ml vodonik-peroksida u skladu sa programom koji preporučuje proizvođač. Nakon digestije uzorci krvi su ohlađeni do sobne temperature i razblaženi sa dejonizovanom vodom u plastične epruvete do 25ml. Kalibracioni standardi za određivanje elemenata u krvi pravljeni su od osnovnih standarda za Pb, Cd, Cu i Zn od 100ppm (Fluka). Kao blank korišten je 1% rastvor azotne kiseline u destilovanoj

vodi. Sadržaj Pb i Cd u uzorcima krvi je određen primjenom GFAAS tehnike (Agilent 240AZ) dok je sadržaj Cu i Zn određen primjenom ICP-OES tehnike (Spectro Arcos). Atomska apsorpciona spektrometrija je još uvijek dominantna analitička tehnika za određivanje elemenata u tragovima u kliničkim laboratorijama. Međutim, sve više i više se kliničke laboratorije razvijaju u pravcu uvođenja novih tehnika, prelazeći sa plamene i elektrotermalne AAS ka tehnikama baziranim na ICP. ICP-OES je u posljednje vrijeme postala jedna od tehnika koje se koriste kako za kvantifikaciju elemenata u farmaceutskim sredstvima tako i za kvantifikaciju elemenata u biomatriksima kao što su serum, krv, plazma, urin, kosti i drugo<sup>7</sup>.

## Rezultati

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je sadržaj Pb i Cd u ispitivanim uzorcima krvi djece predškolskog uzrasta bio ispod LoQ (limita kvantifikacije), koji za Pb iznosi 1 µg/l a za Cd 0.5 µg/l, dok je sadržaj Cu i Zn bio u granicama propisanim za taj uzrast. Deskriptivna statistika, odnosno minimalna, maksimalna i srednja vrijednost koncentracije za Cu i Zn u krvi djece učesnika istraživanja, kao i StD (standardna devijacija) prikazani su u Tabeli 1.

	N	$\bar{X}_{min}$	$\bar{X}_{max}$	$\bar{X}_s$	StD
Konc Cu u krvi (ukupno)	66	0,733	1,617	1,143	0,168
Konc Zn u krvi (ukupno)	66	0,517	6,418	3,558	0,778
Konc Cu u krvi (dječaci)	36	0,767	1,617	1,144	0,171
Konc Zn u krvi (dječaci)	36	0,517	5,001	3,477	0,708
Konc Cu u krvi (djevojčice)	30	0,733	1,558	1,143	0,156
Konc Zn u krvi (djevojčice)	30	2,100	6,418	3,653	0,854
Ukupno N	66				

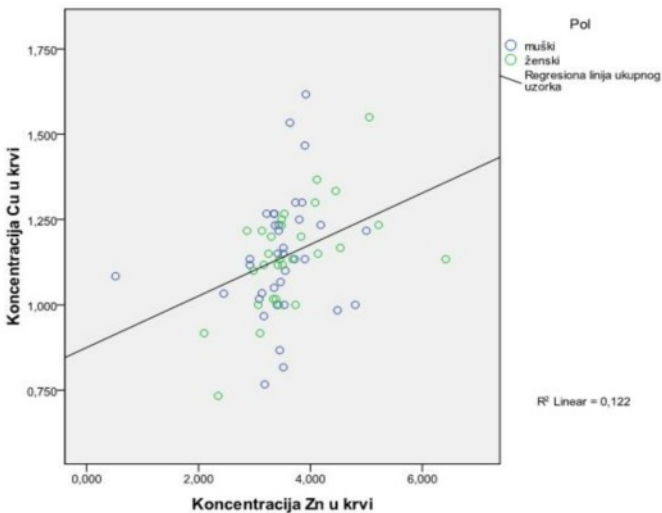
Tabela .1. Deskriptivna statistika (koncentracija Zn i Cu u uzorcima krvi izražena u mg/l)

Povezanost između koncentracije cinka i bakra u krvi određene primjenom ICP-OES tehnike ispitivana je pomoću koeficijenta Pirsonove (Pearson) korelacije. Obavljene su preliminarne analize u cilju utvrđivanja pretpostavki o normalnosti raspodjele. Na nivou ukupnog broja uzorka krvi, rezultati analize pokazali su statistički značajnu povezanost između izmjerenih koncentracija Zn i Cu u krvi ( $r = 0,349$ ;  $n = 66$ ;  $p < 0,01$ ). Regresiona analiza oblika i smjera povezanosti, pokazala je linearnu pozitivnu povezanost koncentracije ova dva elementa u krvi (koeficijent determinacije  $r^2 = 0,122$ ,  $p < 0,05$ ), pri čemu se prisustvo jednog elementa u krvi pokazalo kao značajni prediktor prisustva drugog elementa. Pri ispitivanju povezanosti koncentracija datih elemenata u krvi po polu, nije nađena statistički značajna povezanost koncentracija Zn i Cu u krvi dječaka ( $r = 0,190$ ;  $n = 36$ ;  $p = 0,26$ ), dok je u uzorcima krvi kod djevojčica nađena statistički značajna visoka povezanost između izmjerenih koncentracija Zn i Cu, pri čemu povećanu koncentraciju Zn u krvi prati povećana koncentracija Cu ( $r = 0,548$ ;  $n = 30$ ;  $p < 0,01$ ), Dijagram 1.

Sve statističke analize sprovedene su pomoću SPSS statističkog softvera, verzija 17.0.

## Diskusija

Cu i Zn su spadaju u grupu esencijalnih elemenata neophodnih za održavanje života i zdravlja. Cd i Pb spadaju u grupu teških metala koji mogu biti opasni po ljudsko zdravlje. Zbog svega prethodno navedenog, određivanje sadržaja Cu, Zn, Cd i Pb u krvi djece je od izuzetnog značaja za procjenu zdravstvenog stanja djeteta. Potreba za određivanjem sadržaja Cd i Pb u krvi djece se javila kao posljedica nagle urbanizacije i izuzetno razvijenog saobraćaja u Podgorici



posljednjih godina. Zbog toga je cilj istraživanja bio da se odredi kako sadržaj teških metala, Cd i Pb, koji mogu izazvati neželjene posljedice po zdravlje djece kao i sadržaj i odnos esencijalnih elemenata, Cu i Zn, čiji disbalans može ukazati na nepravilno funkcionisanje organizma.

Na osnovu dobijenih podataka o sadržaju Cd i Pb u krvi djece učesnika u ovom istraživanju, njih 66, može se zaključiti da ne postoji opasnost po njihovo zdravlje s obzirom na to da je sadržaj oba metala bio ispod limita kvantifikacije. Na osnovu ovih podataka može se pretpostaviti da vazduh u Podgorici nije zagađen prisustvom olova i kadmijuma. Sadržaj Cu u ispitivanim uzorcima krvi djece kretao se od 0,733 mg/l (11,5 μmol/l) do 1,617 mg/l (25 μmol/l), što odgovara normalnom sadržaju Cu u krvi koji iznosi od 11-24 μmol/l, Tabela 1. Sadržaj Zn kretao od 0,517 mg/l do 6,418 mg/l krvi jer je određivan sadržaj cinka u cijeloj krvi, pri čemu je udio Zn iz eritrocita i do 10 puta veći nego sadržaj Zn u plazmi ili serumu. Na osnovu statističke obrade podataka može se zaključiti da ne postoji značajna razlika u odnosu Cu/Zn između dječaka i djevojčica (ista je i iznosi 0,3), dok je kod djevojčica primijećena statistički značajna povezanost Cu i Zn, povećan sadržaj Zn praćen je povećanjem sadržaja Cu, Dijagram 1.

Prevelika količina jednog elementa u tragu, može da interferira sa metaboličkom iskoristljivošću drugog elementa koji je prisutan u normalnim ili marginalnim koncentracijama. Tako npr., povećane koncentracije cinka interferiraju sa intestinalnom apsorpcijom bakra, što rezultira deficijencijom bakra uprkos normalnoj količini unijetog. S obzirom na to da se sadržaj bakra kreće u granicama dozvoljenih koncentracija može se zaključiti da ne postoji disbalans u odnosu koncentracija Cu/Zn, te da su djeca učesnici ovog istraživanja dobrog zdravstvenog stanja.

## Zaključak

Dobijeni podaci ukazuju da za sada ne postoji negativan uticaj životne sredine na zdravlje djece, s obzirom na to da su ispitanici iz Podgorice gdje je izražen najveći stepen urbanizacije i saobraćaja, kao i da je odnos Cu/Zn izbalansiran, u dozvoljenim granicama. Međutim treba naglasiti činjenicu da se radi o pilot-prijetku u kojem je obuhvaćen mali broj ispitanika, te pomenuta istraživanja treba nastaviti i proširiti na cijelu Crnu Goru.

## Literatura

1. Peter Heitland, Helmut D. Ko ster, Biomonitoring of 37 trace elements in blood samples from inhabitants of northern Germany by ICP-MS, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 20 (2006) 253-262
2. Faiz, Y., Tufail, M., Tayyeb Javed, M., Chaudhry, M.M., Siddique, N., 2009. Road dust pollution of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn along Islamabad Expressway, Pakistan. *Microchemistry Journal* 92, 186e192.
3. M Toyran, M Kaymak, E Vezir, K Harmanci, A Kaya, T Gini, G Köse, CN Kocaba, Trace Element Levels in Children With Atopic Dermatitis, *J Investig Allergol Clin Immunol* 2012; Vol. 22(5): 341-344
4. Patrick J. Parsons, Fernando Barbosa Jr. Atomic spectrometry and trends in clinical laboratory medicine, *Spectrochimica Acta Part B* 62 (2007) 992-1003
5. S. Omer Sheriff, Dhastagir Sultan Sheriff and Abdalla M. Jarari, Plasma Zinc and Copper Levels In Children of Families with History of Cardio-vascular Disease, *Ibnosina J Med BS* (2010) , 2(3):125-128
6. Abolfazl Mahyar, MD; Parviz Ayazi, MD; Ali-Asghar Pahlevan, PhD, MD; Hoshyar Mojabi, MD; Mohammad-Reza Sehat, MD, and Amir Javadi, MSc, Zinc and Copper Status in Children with Beta-Thalassemia Major, *Iran J Pedia*, Volume 20 (Number 3), September 2010, Pages: 297-302
7. Ammerman, Huang, Sailstad et al. Technical aspects of inductively coupled plasma bioanalysis techniques, *Bioanalysis* (2013) 5(15), 1831-1841