

**ISPITIVANJE UTICAJA MAGNEZIJUMA, CINKA I BAKRA NA  
IZLUČIVANJE KADMIJUMA KOD KUNIĆA\***  
*INVESTIGATIONS OF EFFECTS OF MAGNESIUM, ZINC AND  
COPPER ON CADMIUM EXCRETION IN RABBITS*

Zorica Bulat, Danijela Đukić-Ćosić, Aleksandra Buha, V. Čupić,  
Z. Pavlović, Vesna Matović\*\*

*Kadmijum (Cd) je danas jedan od najznačajnijih metalnih otrova, kako u oblasti profesionalne tako i ekotoksikologije. U organizmu, Cd štetno deluje na bubrege, jetru, kosti, testise itd., a na osnovu dokaza da na ljudima izaziva karcinom pluća svrstan je i u I grupu karcinogena. I pored brojnih literaturnih podataka o štetnim efektima Cd, interakcije kadmijuma i bioelemenata kao značajnog mehanizma toksičnosti kadmijuma, još uvek nisu dovoljno razjašnjene. S obzirom na to da dosadašnji podaci ukazuju na pozitivan efekat suplementacije pojedinim bioelementima na toksičnost i sadržaj kadmijuma u organizmu, cilj ovog rada je bio da se ispita uticaj povećanog istovremenog unosa magnezijuma, cinka i bakra na urinarnu eliminaciju kadmijuma kod kunića izloženih kadmijumu.*

*Kunići su bili podeljeni u dve grupe: I Cd grupa – životinje su 28 dana primale per os 10 mg Cd/kg t.m/dan i II grupa – Cd+(Mg+Zn+Cu): 10 mg Cd/kg t.m. + 40 mg Mg/kg t.m, 20 mg Zn/kg t.m. i 10 mg Cu/kg t.m/dan. Dnevni urin je sakupljan 0, 10, 15, 17, 19, 21, 23, 25. i 28. dana eksperimenta. Nakon razaranja uzoraka urina uz pomoć koncentrovanih HNO<sub>3</sub> i HClO<sub>4</sub> (4:1), koncentracija metala je određena metodom atomske apsorpcione spektrofotometrije.*

*Suplementacija magnezijumom, cinkom i bakrom nije dovela do značajne promene u eliminaciji kadmijuma urinom kod životinja trovanih kadmijumom u poređenju sa životinjama koje su primale samo kadmijum, dok je koncentracija sva tri primenjena bioelementa u urinu bila*

\* Rad primljen za štampu 27. 03. 2012. godine

\*\* Dr sc. Zorica Bulat, docent, dr sc. Danijela Đukić-Ćosić, asistent, Aleksandra Buha, asistent, Katedra za toksikologiju „Akademik Danilo Soldatović“, Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Srbija; dr sc. med. vet. Vitomir Čupić, profesor, Katedra za farmakologiju i toksikologiju, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Srbija; dr sc. Zoran Pavlović, Zavod za javno zdravlje Požarevac, Srbija; dr sc. Vesna Matović, profesor, Katedra za toksikologiju „Akademik Danilo Soldatović“, Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Srbija

*značajno povećana. Može se zaključiti da istovremeno davanje povećanih doza cinka, bakra i magnezijuma ne ispoljava pozitivan efekat na eliminaciju kadmijuma u uslovima trovanja kunića kadmijumom.*

*Ključne reči: kadmijum, bioelementi, suplementacija, urin, kunić*

## **Uvod / Introduction**

Pored toga što je kadmijum (Cd) značajan industrijski otrov, poslednjih decenija mu se pridaje sve veći značaj kao zagađivaču životne sredine koji ugrožava zdravlje opšte populacije, te ga američki izvori (The Agency for Toxic Substances and Disease Registry i Environmental Protection Agency) svrstavaju na sedmo mesto od dvadeset najvažnijih otrova (ATSDR, 2011). Kao rizične grupe za povišenu izloženost kadmijumu se osim radnika, posebno zaposlenih u fabrikama niki-kadmijum baterija, svrstavaju i populacije koje žive u oblastima kontaminiranim kadmijumom, pušači – jer duvanski dim sadrži relativno visoke koncentracije ovog metala, osobe sa specifičnim navikama u ishrani – jer i određene vrste namirnica predstavljaju značajan izvor unošenja kadmijuma, kao i dijabetičari i žene (Järup i sar., 1998).

Pored efekata na bubrege, jetru, kosti i pluća, poznatih već dugi niz godina, i njegovi potvrđeni kancerogeni uticaji na ljude (IARC, 1993), novija istraživanja ukazuju na to da i niske doze ovog metala mogu dovesti do toksičnog odgovora (Bhattacharyya, 2009), kao i da postoji veza između izloženosti kadmijumu i danas posebno aktuelnih bolesti kao što su šećerna bolest, bolesti tireoidne itd. (Edwards i Prozialeck, 2009; Pilat-Marcinkiewicz i sar., 2002). Pri tome, uobičajena helatna terapija trovanja metalima ne daje željene rezultate, te se može reći da terapija trovanja kadmijumom nije rešena.

Među brojnim mehanizmima toksičnosti kadmijuma jedan od bitnih predstavljaju interakcije Cd sa bioelementima, pri čemu se ove interakcije odigravaju na nivou resorpcije, distribucije tj. ulaska metala u samu ćeliju, kao i eliminacije, a Cd može uticati i na biološke funkcije bioelemenata.

Danas se smatra da toksičnost kadmijuma, barem jednim delom, potiče od remećenja metabolizma Zn. Zbog toga se kadmijum i naziva antimetabolitom cinka, iako je utvrđeno da kadmijum utiče na homeostazu i drugih bioelemenata, kao što su bakar, magnezijum, selen, mangan, molibden, natrijum, kalijum, hrom itd (Moullis, 2010; Nordberg i sar., 2007; Task Group on Metal Interactions, 1978).

S obzirom na to da je prethodnim istraživanjima utvrđeno da kadmijum izaziva disbalans bioelemenata, najčešće u smislu deficita, kao i činjenice da terapija i profilaksa hroničnog trovanja kadmijumom nisu rešeni, usledila su ispitivanja *vice versa*, tj. ispitivanja povećanog unosa pojedinih bioelemenata, posebno Zn i Se, ali i Mg na toksičnost Cd. Rezultati ovih istraživanja su pokazali da pojedini bioelementi mogu bar delimično da spreče toksične efekte izazvane kad-

mijumom i smanje njegov sadržaj u organizmu (Brzóška i sar., 2007; Bulat i sar., 2008; Đukić-Čosić i sar., 2007; Lazarus i sar., 2009; Matović i sar., 2010b). Međutim, malo je podataka o istovremenoj primeni više esencijalnih katjona na kretanje Cd u organizmu. Ako se pođe od saznanja o pozitivnim efektima pojedinih bioelemenata može se pretpostaviti da se istovremenom primenom mogu dobiti bolji rezultati te je cilj ovog rada bio da se ispita uticaj suplementacije cinkom, bakrom i magnezijumom na urinarnu eliminaciju ovog toksičnog metala kod kunića izloženih kadmijumu. Za praćenje efekata Zn, Cu i Mg je korišćen urin. Sadržaj Cd u urinu je najbolji parametar nivoa izloženosti, jer, za razliku od krvi u kojoj koncentracija Cd ukazuje na trenutnu izloženost, Cd u urinu odražava ukupno telesno opterećenje kadmijumom (ATSDR, 2008). Osim toga, želeli smo da uporedimo sadržaj bioelemenata u urinu kunića izloženih kadmijumu sa njihovim sadržajem u urinu po istovremenoj aplikaciji kadmijuma i bioelemenata.

### **Materijal i metode rada / *Material and methods***

Ispitivanja su obavljena na kunićima *Oryctolagus cuniculus*–*Belgian hare*, starim oko godinu dana i težine 2,5 kg – 3,5 kg, koji su uzgajani na farmi za uzgoj laboratorijskih životinja Instituta za medicinska istraživanja Vojnomedicinske akademije u Beogradu. Tokom rada sa životinjama poštovani su etički principi rada na laboratorijskim životinjama Vojnomedicinske akademije u Beogradu koji striktno poštuju pravila Evropske zajednice iz ove oblasti (European Community Guidelines, EEC Directive of 1986; 86/609/EEC).

Životinje su čuvane u vivarijumu, na temperaturi  $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  i relativnoj vlažnosti vazduha  $50\% \pm 10\%$ , sa ciklusom svetlost/tama (12 h/12 h), a bile su smeštene po jedna u metalnom kavezu za kuniće (dimenzija 30,5 cm x 32,0 cm x 50,0 cm). Hrana (Smeša K 16%, hrana za kuniće u peletiranom obliku, Veterinarski zavod, Subotica) i voda su bile dostupne 24 sata dnevno, izuzev tokom boravka u metaboličkim kavezima, kada hrana nije bila dostupna. Radi prilagođavanja, životinje su boravile 7 – 10 dana pre početka eksperimenta u prostorijama vivarijuma. Sva uzorkovanja i aplikovanja su obavljena u vivarijumu, u isto doba dana (od 8 h do 12 h) da bi se obezbedio isti vremenski razmak uzorkovanja u svim grupama radi pravilnog poređenja i da bi se izbegle eventualne cirkadijalne varijacije u sadržaju bioelemenata u krvi.

Voda za piće je sadržala oko 148  $\mu\text{g/L}$  cinka, 10  $\mu\text{g/L}$  bakra, 15 mg /L magnezijuma. U hrani je određen sledeći sadržaj bioelemenata: 91 mg Zn/kg, 21 mg Cu/kg, 2,4 g Mg/kg. Sadržaj kadmijuma je i u vodi i u hrani bio ispod nivoa detekcije primenjene analitičke metode (AAS).

Sve eksperimentalne životinje su podeljene u dve eksperimentalne grupe, po osam jedinki u svakoj:

- **1. grupa – Cd grupa:** životinje koje su dobijale *per os* 10 mg Cd/kg t.m. u obliku vodenog rastvora kadmijum-hlorida, svakodnevno tokom 28 dana. Ovu dozu smo odabrali na osnovu naših prethodnih ispitivanja, kao i ispitivanja

drugih autora kojima je utvrđeno da navedena količina Cd davana oralnim putem za duži vremenski period izaziva efekte trovanja kadmijumom, ali ne dovodi do oštećenja bubrega (Bržuska i sar., 2001; Soldatović i sar., 1998).

• **2. grupa – Cd + (Mg+Zn+Cu) grupa:** životinje koje su tretirane *per os* sa 10 mg Cd/kg t.m. u obliku vodenog rastvora kadmijum-hlorida, 40 mg Mg/kg t.m. u obliku vodenog rastvora Mg-acetata, 20 mg Zn/kg t.m. u obliku vodenog rastvora Zn-sulfata i 10 mg Cu/kg t.m. u obliku vodenog rastvora Cu-sulfata svakodnevno tokom 28 dana.

Svi rastvori su aplikovani orogastričnom tubom. Rastvor magnezijum-acetata je aplikovan 1 sat, a rastvori cink-sulfata i bakar-sulfata 2 sata po davanju rastvora kadmijum-hlorida.

Za analizu je sakupljan urin u određenim vremenskim intervalima tokom eksperimenta: 0, 10, 15, 17, 19, 21, 23, 25. i 28. dana, a uziman je uvek ujutro pre aplikovanja naredne doze Cd i bioelemenata. Za analizu urina, koji je sakupljan u metaboličkim kavezima u periodu od 24 časa, korišćeni su uzorci od 50 ml urina ili manje, u zavisnosti od količine sakupljenog urina. Od svih uzoraka urina rađene su dve paralelne probe, a za dalja izračunavanja je korišćena srednja vrednost. Priprema uzoraka urina za merenje sadržaja metala je vršena razaranjem koncentrovanom HNO<sub>3</sub> i HClO<sub>4</sub> u odnosu 4:1 uz zagrevanje na peščanom kupatilu.

Sadržaj ispitivanih metala (Cd, Mg, Zn i Cu) je određen u urinu metodom plamene atomske apsorpcione spektrofotometrije (AAS) na aparatu GBC 932AA (Australija). Korišćena je oksidaciona vrsta plamena, acetilen-vazduh. Hemijske interferencije pri određivanju magnezijuma su uklanjane dodatkom pufernog rastvora cezijum hlorid-lantan hlorida (Merck, Darmstadt).

Statistička analiza je urađena primenom Mann-Whitney-jevog testa. Upoređene su vrednosti u svakoj grupi životinja radi utvrđivanja statistički značajnih razlika u sadržaju ispitivanih metala u urinu u određenim danima ispitivanja u poređenju sa kontrolnom vrednosti (nulti dan ispitivanja). Isti test je primenjen i radi utvrđivanja statistički značajnih razlika u sadržaju ispitivanih metala u urinu među grupama za svaki dan ispitivanja. Uslov za statističku značajnost rezultata je  $p \leq 0,05$ . Sve kalkulacije su urađene pomoću EXCEL 2007 i SPSS paketa, verzija 11 za Windows.

## Rezultati / Results

Koncentracije Cd u urinu u Cd i Cd+(Mg+Zn+Cu) grupama (tabela 1), u svim ispitivanim vremenima, značajno su veće ( $p < 0,001$ ) od vrednosti određene na početku ispitivanja, nultog dana. Vrednosti sadržaja kadmijuma u urinu su upoređene i po danima između ove dve grupe, ali nije dobijena statistički značajna razlika.

Tabela 1. Efekti istovremene primene Mg, Zn i Cu na sadržaj Cd u urinu kunića trovanih kadmijumom /

Table 1. Effects of simultaneous application of Mg, Zn and Cu on Cd content in urine of rabbits poisoned with cadmium

Dan / Day	Cd (µmol/L)	
	Grupe / Groups	
	Cd <sup>1)</sup>	Cd+(Mg+Zn+Cu) <sup>2)</sup>
0	0,20 0,05-0,47	0,20 0,09-0,55
10	1,32*** 0,30-3,52	1,09*** 0,55-1,99
15	1,20*** 0,46-2,87	0,80*** 0,51-2,12
17	2,00*** 0,75-5,78	1,15*** 0,56-3,26
19	2,72*** 1,00-5,53	1,57*** 0,33-3,30
21	2,26*** 0,90-5,83	1,65*** 0,46-4,66
23	2,02*** 0,60-5,30	1,58*** 1,08-5,32
25	2,46*** 0,44-4,15	1,51*** 0,84-5,32
28	1,38*** 0,45-5,32	1,12*** 0,40-3,37

<sup>1)</sup> Cd grupa – 10 mg Cd/kg t.m/dan, p.o. tokom 28 dana;

<sup>2)</sup> Cd+(Mg+Zn+Cu) grupa – 10 mg Cd/kg t.m/dan+40 mg Mg/kg t.m/dan+20 mg Zn/kg t.m/dan+10 mg Cu/kg t.m/dan, p.o. tokom 28 dana. Vrednosti su izražene kao medijane i opsezi.

Označene vrednosti se razlikuju značajno ( $p < 0,05$ ; Mann Witney test) od \* kontrole (dan 0) i † Cd grupe. \* †  $p < 0,05$ ; \*\*\* ††  $p < 0,01$ ; \*\*\* †††  $p < 0,001$  /

<sup>1)</sup> Cd group-10 mg Cd/kg b.m/day, p.o. during 28 days; /

<sup>2)</sup> Cd+(Mg+Zn+Cu) group-10 mg Cd/kg b.m/day+40 mg Mg/kg b.m/day+20 mg Zn/kg b.m/day+10 mg Cu/kg b.m/day, p.o. during 28 days. Values are expressed as median and ranges.

Marked values differ significantly ( $p < 0,05$ ; Mann Whitney u test) from \* control (day 0) and † Cd group.

\* †  $p < 0,05$ ; \*\*\* ††  $p < 0,01$ ; \*\*\* †††  $p < 0,001$

Izrazito pojačano izlučivanje magnezijuma urinom je konstatovano u Cd grupi od 17. dana, a u Cd+(Mg+Zn+Cu) grupi od 10. dana pa do kraja ispitivanja u poređenju sa nultim danom ( $p < 0,001$ ) (tabela 2). Poređenjem vrednosti Mg u urinu dve grupe dobijeno je da je od 10. do 23. dana nivo Mg u Cd+(Mg+Zn+Cu) grupi značajno viši nego u Cd grupi.

Značajno povišen sadržaj Zn u urinu u poređenju sa nultim vremenom dokazan je u grupi koja je uz Cd primala i sva tri bioelementa od 10. dana ( $p < 0,01$ ) pa do kraja ispitivanja ( $p < 0,01$  i  $p < 0,001$ ), dok je u grupi koja je primala samo Cd značajan porast konstatovan 21. i 23. dana (tabela 2). Izlučivanje Zn uri-

nom u grupi Cd + (Mg + Zn + Cu) značajno je povećano u poređenju sa Cd grupom 15, 19. i 25. dana.

Tabela 2. Efekti istovremene primene Mg, Zn i Cu na njihov sadržaj u urinu kunića trovanih kadmijumom /  
Table 2. Effects of simultaneous application of Mg, Zn and Cu on their content in urine of rabbits poisoned with cadmium

Dan / Day	Zn (µmol/L)		Cu (µmol/L)		Mg (mmol/L)	
	Grupe / Groups					
	Cd <sup>1)</sup>	Cd+ (Mg+Zn+Cu) <sup>2)</sup>	Cd	Cd+ (Mg+Zn+Cu)	Cd	Cd+ (Mg+Zn+Cu)
0	7,30 4,88-17,69	11,23 4,47-16,55	0,90 0,39-1,36	0,92 0,48-1,80	21,67 13,35-32,72	21,13 14,84-36,21
10	11,33 4,02-28,81	20,58** 10,73-39,57	1,27 0,31-2,70	4,61***††† 2,22-9,20	24,68 15,77-68,85	61,85***† 37,29-118,75
15	12,92 6,12-23,16	33,85**† 13,83-40,17	1,25 0,53-2,76	4,91**† 0,97-8,44	25,34 16,47-60,16	71,88***†† 56,69-126,72
17	12,28 5,96-39,47	29,80** 10,22-87,43	1,03 0,37-4,30	3,29***††† 1,70-10,09	49,85** 26,39-55,48	87,30***†† 39,76-111,96
19	12,34 7,34-33,04	19,92***† 10,40-61,23	1,41* 0,54-5,53	3,98***† 1,17-8,39	40,42* 11,40-54,20	80,04***† 25,58-131,62
21	19,50* 7,93-44,31	32,94** 10,99-79,51	1,86** 0,97-3,98	4,98***† 1,96-7,34	40,67** 25,58-70,91	83,01***††† 54,73-128,94
23	27,69* 5,63-39,66	38,22*** 15,72-114,51	1,59* 0,63-4,08	4,39***† 1,69-8,64	47,90** 24,83-63,51	80,52***† 41,08-123,99
25	14,79 6,48-29,03	36,87***† 11,86-56,83	1,16* 0,83-3,93	4,50***†† 2,42-9,25	52,53* 17,39-87,82	81,87*** 55,86-113,63
28	15,87 4,09-48,30	25,44*** 15,18-52,66	1,64* 0,58-3,32	4,96***†† 1,45-7,11	48,41* 20,26-90,57	66,88*** 27,12-170,29

<sup>1)</sup>Cd grupa – 10 mg Cd/kg t.m/dan, p.o. tokom 28 dana;

<sup>2)</sup>Cd+(Mg+Zn+Cu) grupa – 10 mg Cd/kg t.m/dan+40 mg Mg/kg t.m/dan+20 mg Zn/kg t.m/dan+10 mg Cu/kg t.m/dan, p.o. tokom 28 dana. Vrednosti su izražene kao medijane i opsezi.

Označene vrednosti se razlikuju značajno ( $p < 0,05$ ; Mann Witney test) od \*kontrola (dan 0) i † Cd grupe. \*†  $p < 0,05$ ; \*\*††  $p < 0,01$ ; \*\*\*†††  $p < 0,001$  /

<sup>1)</sup>Cd group - 10 mg Cd/kg b.m/day, p.o. during 28 days;

<sup>2)</sup>Cd+(Mg+Zn+Cu) group-10 mg Cd/kg b.m/day+40 mg Mg/kg b.m/day+20 mg Zn/kg b.m/day+10 mg Cu/kg b.m/day, p.o. during 28 days. Values are expressed as median and ranges.

Marked values differ significantly ( $p < 0,05$ ; Mann Whitney u test) from \* control (day 0) and † Cd group. \*†  $p < 0,05$ ; \*\*††  $p < 0,01$ ; \*\*\*†††  $p < 0,001$

Promene u sadržaju bakra u urinu u smeru pojačanog izlučivanja u poređenju sa nultim danom se registruju od 19. dana ( $p < 0,05$ ) u grupi koja je primala samo Cd, a u grupi Cd + (Mg + Zn + Cu) već od 10. dana pa sve do kraja ispitivanja ( $p < 0,01$  i  $p < 0,001$ ) (tabela 2). Sadržaj Cu u urinu Cd + (Mg + Zn + Cu) grupe je značajno viši u poređenju sa Cd grupom u svim ispitivanim vremenima.

## Diskusija / Discussion

Suplementacija bioelementima u uslovima hronične izloženosti kadmijumu zauzima značajno mesto u nalaženju terapije trovanja kadmijumom. Rezultati dosadašnjih ispitivanja ukazuju na značajan gubitak bioelemenata kod životinja izloženih kadmijumu (Brzüska i sar., 2007; Wang i sar., 2011), kao i pozitivnu korelaciju između sadržaja Cd i npr. Zn ili Cu u urinu ljudi (Plamenac Bulat i sar., 2009a; Watanabe i sar., 2000). Naša prethodna studija na kunićima je pokazala da subakutno trovanje kadmijumom u dozi od 10 mg/kg dovodi do pojačane eliminacije Mg, Zn i Cu (Matović i sar., 2010a; Soldatović i sar., 1998). Osim toga, naša ispitivanja sprovedena na radnicima u fabrici nikel-kadmijumovih baterija su pokazala da izloženost kadmijumu rezultira statistički značajnim povećanjem eliminacije Zn putem urina (Plamenac Bulat i sar., 2009a). Ispitivanja u suprotnom pravcu, tj, uticaj suplementacije pojedinih bioelemenata na eliminaciju kadmijuma su malobrojna i ne daju koherentan odgovor (Barbier i sar., 2004; Brzüska i sar., 2007; Liu i sar., 1994).

Rezultati ovog rada pokazuju da primena sva tri bioelementa zajedno kod kunića hronično izloženih kadmijumu ne dovodi do statistički značajne promene u koncentraciji kadmijuma u urinu tokom četiri nedelje eksperimenta u poređenju sa Cd grupom, iako se u Cd+(Mg+Zn+Cu) grupi zapaža trend smanjenja koncentracije Cd u urinu. Činjenica je da su naša prethodna ispitivanja vršena pod istim eksperimentalnim uslovima ukazala na to da je primena sva tri bioelementa zajedno dovela do smanjenja koncentracije Cd i u krvi i pojedinim organima, naročito bubrezima (Plamenac Bulat, 2009b). Ovi rezultati su objašnjeni interakcijama Cd i bioelemenata, u smislu antagonizma, koje se dešavaju na nivou resorpcije u digestivnom traktu, ali i mogućom pojačanom bilijarnom ekskrecijom Cd iz organizma.

Da bi se objasnili efekti zajedničkog davanja Zn, Cu i Mg na sadržaj Cd u urinu kunića izloženih kadmijumu, o čemu ne postoje literaturni podaci, neophodno je poznavanje procesa i mehanizama kojima svaki od pojedinih bioelemenata utiče na eliminaciju Cd iz organizma, a što, međutim, do sada nije u potpunosti razjašnjeno. Rezultati ispitivanja na ovcama koje su primale kadmijum i cink putem hrane pokazali su da suplementacija cinkom smanjuje eliminaciju kadmijuma urinom, ali značajno povećava eliminaciju Cd fecesom u poređenju sa grupom koja je primala samo Cd (Phillips i sar., 2004). Brzoska i sar. (2007) su pokazali da primena različitih doza Cd i Zn putem vode za piće u trajanju od 6 i 12 meseci nije imala nikakav efekat na eliminaciju kadmijuma urinom kod muških pacova. Grupa autora predvođena Jacquillet-om i Barbier-om je (Barbier i sar., 2004; Jacquillet i sar., 2006) vršila brojna ispitivanja o štetnim efektima kadmijuma na funkciju bubrega, kao i o protektivnoj ulozi cinka, zaključivši da cink prevenira promene u renalnoj funkciji do kojih dovodi izloženost kadmijumu, iako nema uticaja na sadržaj kadmijuma u bubrežnom tkivu. Rezultati istih autora pokazuju da su interakcije Cd i Zn na nivou nefrona pacova dozno-zavisne i da visoke doze Zn

promovišu eliminaciju Cd putem urina (Barbier i sar., 2004). U okviru problematike interakcije kadmijuma i bioelemenata na nivou urinarne eliminacije neophodno je pomenuti i rezultate Liu i sar. (1994) koji su ispitali uticaj s.c. predtretmana cinkom ili bakrom, kao i njihovog zajedničkog davanja na izlučivanje kadmijuma urinom, pri čemu su zaključili da suplementacija cinkom nema efekta na urinarnu ekskreciju kadmijuma, ali da se pod istim uslovima, ukoliko se Cd primeni u obliku Cd-MT, značajno povećava koncentracija Cd u urinu. Što se tiče uticaja samog Cu na urinarnu eliminaciju Cd, predtretman bakrom smanjuje urinarnu ekskreciju kadmijuma u poređenju sa životinjama koje su primale samo kadmijum, kako slobodan tako i u obliku Cd-MT. Istovremena primena Zn i Cu pre davanja kadmijuma, pak pojačava eliminaciju kadmijuma putem urina kod pacova.

Naši prethodni rezultati pokazuju da primena Mg, Zn ili Cu *per se* kod kunića trovanih kadmijumom ne izaziva značajne promene u eliminaciji kadmijuma (Matović i sar., 2010a) iako je suplementacija Zn ili Mg rezultovala smanjenjem, a Cu povećanjem koncentracije u krvi i pojedinim organima. Ukoliko uporedimo ove rezultate sa rezultatima dobijenim u ovom radu može se zaključiti da je efekat zajedničke primene Mg, Zn i Cu najbližnji efektu do koga je doveo sam Zn, što se može objasniti izraženim interakcijama Cd i Zn.

Nameće se zaključak da kadmijum, iako ima izrazita nefrotoksična svojstva i nije esencijalni katjon, obilato koristi brojne transportne puteve u sistemu reapsorpcije u bubrežnom tkivu, što značajno otežava njegovu eliminaciju putem urina sve dok ne dođe do tubularne disfunkcije koju karakteriše porast koncentracije kadmijuma, ali i proteina, amino kiselina, bikarbonata itd. u urinu, patološkog stanja sličnog Fankonijevom sindromu. Pored toga što su primarno mesto kadmijumove toksičnosti zbog svoje specifične strukture, proksimalne tubule su ogromne luminalne površine, brojnih mitohondrija i lako propusnih međucelijskih prostora, visoko efikasne u reapsorpciji nutritienata, proteina, ali i kadmijuma. Reapsorpciju Cd olakšava i njegova sposobnost jonske i molekulske mimikrije, koja mu omogućava da koristi brojne transportne sisteme za proteinske strukture i jonske nosače DMT1, TRPM, ZIP itd. Može se pretpostaviti da primena bioelemenata dovodi do smanjenja reapsorpcije Cd u proksimalnim tubulima (PT) kao rezultat kompeticije na nivou jonskih nosača (Vesey, 2010). U prilog ovoj hipotezi idu ispitivanja na izolovanim PT pacova i kunića koja pokazuju da primena Fe, Zn ili Ca uz Cd značajno smanjuje reapsorpciju, a olakšava eliminaciju Cd (Wang i sar., 2010). Međutim, rezultati nekih drugih autora kao i naših prethodnih i ovih ispitivanja nisu u saglasnosti sa ovom pretpostavkom.

Pri analizi uticaja primene Zn, Cu i Mg u uslovima produžene izloženosti kadmijumu na eliminaciju ovog toksičnog metala urinom, ne mogu da se zanemare ni interakcije između samih bioelemenata. Treba imati u vidu da se nijedan od esencijalnih katjona ne može posmatrati pojedinačno, jer njihova apsorpcija, zadržavanje u organima i tkivima, kao i eliminacija direktno zavise od sadržaja drugih bioelemenata, bilo da su oni agonisti ili antagonisti. U ovom radu je konstatovan porast koncentracije Mg, Zn i Cu u urinu kako kunića trovanih kadmi-



jumom tako suplementiranih kunića u odnosu na početak ispitivanja (nulti dan). Naši rezultati ukazuju na izražen uticaj Cd na eliminaciju bioeleminata Mg, Zn i Cu urinom, pri čemu je koncentracija Mg i Zn čak slična nivoima ovih bioeleminata u uslovima suplementacija visokim pojedinačnim dozama bioeleminata. Veći porast koncentracije bakra u urinu suplementiranih životinja u odnosu na grupu koja je bila izložena samo kadmijumu bar delimično se može objasniti drugačijom prirodnom interakcijom kadmijuma sa Mg i Zn u odnosu na interakcije sa Cu. Treba istaći i da u uslovima kotretmana bioelementima do statistički značajnog povećanja eliminacije Mg, Zn i Cu dolazi već posle prvog ispitivanja (10. dan), dok je ovaj efekat odložen kod životinja koje su tretirane samo kadmijumom i javlja se najranije posle 17. dana posle primene magnezijuma.

### **Zaključak / Conclusion**

Rezultati ovog rada pokazuju da suplementacija Zn, Cu i Mg nema uticaja na sadržaj Cd u urinu kunića subakutno trovanih kadmijumom te opovrgavaju pretpostavku da zbirno davanje bioeleminata može dovesti do izraženijih efekata na eliminaciju Cd putem urina nego pojedinačno davanje navedenih bioeleminata.

### **NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:**

Rad je finansiran sredstvima projekta Ministarstva nauke i prosvete Republike Srbije, III46009 „Unapređenje i razvoj higijenskih i tehnoloških postupaka u proizvodnji namirnica životinjskog porekla u cilju dobijanja kvalitetnih i bezbednih proizvoda konkurentnih na svetskom tržištu“ u oblasti Poljoprivreda i hrana (potprojekat „Hemijski kontaminanti hrane“). /

*This work has been financed by funds of the Ministry for Science and Education of the Republic of Serbia within project III46009 "Promotion and development of hygiene and technological procedures in production of food articles of animal origin aimed at securing quality and safe products that are competitive on the world market" in the area Agriculture and Food (subproject Chemical food contaminants ).*

### **Literatura / References**

1. ATSDR. Draft toxicological profile for cadmium. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry; 2008.
2. ATSDR. Priority List of Hazardous Substance. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry; 2011.
3. Bhattacharyya MH. Cadmium osteotoxicity in experimental animals: Mechanisms and relationship to human exposures. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 238: 258-65.
4. Barbier O, Jacquillet G, Tauc M, Poujeol P, Cougnon M. Acute study of interaction among cadmium, calcium, and zinc transport along the rat nephron in vivo. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 287: 1067-75.
5. Brzoska MM, Moniuszko-Jakoniuk J, Jurczuk M, Galazyn-Sidorczuk M, Rogalska J. The effect of zinc supply on cadmium-induced changes in the tibia of rats. *Food Chem Toxicol* 2001; 39: 729-37.
6. Brzoska MM, Rogalska J, Galazyn-Sidorczuk M, Jurczuk M, Roszczenko A, Kulikowska-Karpińska E, Moniuszko-Jakoniuk J. Effect of zinc supplementation on bone

- metabolism in male rats chronically exposed to cadmium. *Toxicology* 2007; 237: 89-103.
7. Bulat ZP, Đukić-Ćosić D, Maličević Ž, Bulat P, Matović V. Zinc or magnesium supplementation modulates Cd intoxication in blood, kidney, spleen, and bone of rabbits. *Biol Trace Elem Res* 2008; 124: 110-7.
  8. Đukić-Ćosić D, Ninković M, Maličević Ž, Matović V, Soldatović D. Effect of magnesium pretreatment on reduced glutathione levels in tissues of mice exposed to acute and subacute cadmium intoxication: a time course study. *Magnes Res* 2007; 20: 1-10.
  9. Edwards JR, Prozialeck WC. Cadmium, diabetes and chronic kidney disease. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 238: 289-93.
  10. International Agency for Research on Cancer (IARC). Beryllium, cadmium, mercury, and exposures in the glass manufacturing industry. In: IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. IARC Scientific Publications, Lyon, 1993; 119-237.
  11. Jacquillet G, Barbier O, Cougnon M, Tauc M, Namorado MC, Martin D, Reyes JL, Poujeol P. Zinc protects renal function during cadmium intoxication in the rat. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290: 127-37.
  12. Järup L, Berglund M, Elinder CG, Nordberg G, Vahter M. Health effects of cadmium exposure-a review of the literature and a risk estimate. *Scand J Work Environ Health* 1998; 24(Suppl. 1): 1-51.
  13. Lazarus M, Orct T, Jurasović J, Blanuša M. The effect of dietary selenium supplementation on cadmium absorption and retention in suckling rats. *Biometals* 2009; 22: 973-83.
  14. Liu X, Jin T, Nordberg GF, Sjöström M, Zhou Y. Influence of zinc and copper administration on metal disposition in rats with cadmium-metallothionein-induced nephrotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994; 126: 84-90.
  15. Matović V, Plamenac Bulat Z, Đukić-Ćosić D, Soldatović D. Zinc, copper or magnesium supplementation against cadmium toxicity: an experimental study. In: Blanc G, Moreau D (Eds.): *Biometals: molecular structures, binding properties and applications*. Nova Science Publisher, New York, 2010a; 1-31.
  16. Matović V, Plamenac Bulat Z, Đukić-Ćosić D, Soldatović D. Antagonism between cadmium and magnesium: a possible role of magnesium in therapy of cadmium intoxication. *Magnes Res* 2010b; 23: 19-26.
  17. Moulis JM. Cellular mechanisms of cadmium toxicity related to the homeostasis of essential metals. *Biometals* 2010; 23: 877-996.
  18. Nordberg GF, Gerhardsson L, Broberg K, Mumtaz M, Ruiz P, Fowler BA. Interactions in Metal Toxicology. In: Nordberg GF, Fowler BA, Nordberg M, Friberg L (Eds.): *Handbook on the Toxicology of Metals*. Elsevier, Amsterdam 2007; 446-86.
  19. Phillips CJC, Chiy PC, Omed HM. The effects of cadmium in feed, and its amelioration with zinc, on element balances in sheep. *J Animal Sci* 2004; 82: 2489-502.
  20. Pilat-Marcinkiewicz B, Sawicki B, Brzóska MM, Moniuszko-Jakoniuk J. Effect of chronic administration of cadmium on the rat thyroid: radioimmunological and immunohistochemical studies. *Folia Histochem Cytobiol* 2002; 40(2): 189-90.
  21. Plamenac Bulat Z, Đukić-Ćosić D, Đukić M, Bulat P, Matović V. Blood and urine cadmium and bioelements profile in nickel-cadmium battery workers in Serbia. *Toxicol Ind Health* 2009a; 25: 129-35.
  22. Plamenac Bulat Z. Interakcije kadmijuma i bioelemenata cinka, bakra i magnezijuma kod ljudi i kunića izloženih kadmijumu (Interactions of cadmium and bioele-

- ments zinc, copper and magnesium in humans and rabbits exposed to cadmium), PhD thesis. Faculty of Pharmacy, University of Belgrade, Belgrade, 2009b.
23. Soldatović D, Matović V, Vujanović D, Stojanović Z. Contribution to interaction between magnesium and toxic metals: the effect of prolonged cadmium intoxication on magnesium metabolism in rabbits. *Magnes Res* 1998; 11: 283-8.
  24. Task Group on Metal Interactions. Factors influencing metabolism and toxicity of metals: a consensus report. *Environ Health Perspect* 1978; 25: 3-42.
  25. Vesey DA. Transport pathways for cadmium in the intestine and kidney proximal tubule: Focus on the interaction with essential metals. *Toxicol Lett* 2010; 198: 13-9.
  26. Wang Y, Zalups RK, Barfuss DW. Potential mechanisms involved in the absorptive transport of cadmium in isolated perfused rabbit renal proximal tubules. *Toxicol Lett* 2010; 193: 61-8.
  27. Wang L, Zhou X, Yang D, Wang Z. Effects of lead and/or cadmium on the distribution patterns of some essential trace elements in immature female rats. *Hum Exp Toxicol* 2011; DOI: 10.1177/0960327111405865.
  28. Watanabe T, Zhang ZW, Moon CS, Shimbo S, Nakatsuka H, Matsuda-Inoguchi N, Higashikawa K, Ikeda M. Cadmium exposure of women in general populations in Japan during 1991–1997 compared with 1977–1981. *Int Arch Occup Environ Health* 2000; 73: 26-34.

**ENGLISH**

**INVESTIGATIONS OF EFFECTS OF MAGNESIUM, ZINC AND COPPER ON CADMIUM EXCRETION IN RABBITS**

**Zorica Bulat, Danijela Đukić-Ćosić, Aleksandra Buha, V. Ćupić, Z. Pavlović, Vesna Matović**

Cadmium (Cd) is today one of the most significant metal poisons, both in the area of professional as well as of eco toxicology. In the organism, cadmium has a harmful effect on the kidneys, liver, bones, testicles, etc., and, based on evidence in humans that it causes lung carcinoma, it has been placed in the first group of carcinogens. In spite of numerous data in literature on the harmful effects of cadmium, the interactions between cadmium and bioelements as a significant mechanism for cadmium toxicity have still not been sufficiently explained. Since the data so far point to a positive effect of supplementation with certain bioelements regarding toxicity and cadmium content in the organism, the objective of this work was to investigate the effect of increased simultaneous intake of magnesium, zinc and copper on urinary elimination of cadmium in rabbits exposed to cadmium.

Rabbits were divided into two groups: Cd group – for a period of 28 days the animals received *per os* 10 mg Cd/kg b.m./day and Cd+(Mg+Zn+Cu) group - 10 mg Cd/kg b.m. + 40 mg Mg/kg b.m, 20 mg Zn/kg b.m. and 10 mg Cu/kg b.m./day. Daily urine was collected on days 0, 10, 15, 17, 19, 21, 23, 25, and 28 of the experiment. Following decomposition of urine samples with the help of concentrated HNO<sub>3</sub> and HClO<sub>4</sub> (4:1), the metal concentration was determined using the method of atomic absorption spectrophotometry.

Supplementation with magnesium, zinc and copper did not result in significant changes in the elimination of cadmium through urine in animals poisoned with cad-

mium, in comparison with the animals that were administered only cadmium, while the concentration of all three applied bioelements in urine was significantly increased. It can be concluded that the simultaneous administration of increased doses of zinc, copper and magnesium does not have a positive effect on the elimination of cadmium in conditions when rabbits are poisoned with cadmium.

Key words: cadmium, bioelements, supplementation, urine, rabbit

## РУССКИЙ

### ИСПЫТАНИЕ ВЛИЯНИЯ МАГНИЯ, ЦИНКА И МЕДИ НА ВЫДЕЛЕНИЕ КАДМИЯ У КРОЛИКОВ

**Зорица Булат, Данела Джукич-Чосич, Александра Буха, В. Чупич,  
З. Павлович, Весна Матович**

Кадмий (Cd) в настоящее время один из самых значительных металлических ядов, как в области профессиональной так и экотоксикологии. В организме Cd вредно действует на почки, печень, кости, яички и т.д., а на основе доказательства на людях, что вызывает карциному лёгких распределен в I группу карциногенов. И возле численных литературных данных о вредных эффектах Cd, интеракции кадмия и биоэлементов как значительного механизма токсичности кадмия, суть всё ещё недостаточно разъяснены. Принимая во внимание, что бывшие данные указывают на положительный эффект добавления некоторыми биоэлементами на токсичность и содержание кадмия в организма, цель этой работы была испытать влияние увеличенного одновременноговноса магния, цинка и меди на мочевую элиминацию кадмия у кроликов подвергнутых кадмию.

Кролики были разделены в две группы: I Cd группа - животные 28 дней принимали *per os* 10 мг Cd/кг м.т./день и Cd + (Mg + Zn + Cu) II группа - 10 мг Cd/кг/м.т., 20 мг Zn/кг м.т. и 10 мг Cu/кг м.т./день. Дневная моча накапливана 0, 10, 15, 17, 19, 21, 23, 25 и 28 дней эксперимента. После разрушения образчиков мочи с помощью концентрированных HNO<sub>3</sub> и HClO<sub>4</sub> (4:1), концентрация металла определена методом атомной абсорбционной спектрофотометрии.

Добавление магнием, цинком и медью не привело до значительного изменения в элиминации кадмия мочей у животных, отравленных кадмием в сравнении с животными, принимаемые только кадмий, пока концентрация все три применённых биоэлемента в моче была значительно увеличенная. Можно оделать вывод, что одновременная дача, увеличенных доз цинка, меди и магния не проявляет положительный эффект на элиминацию кадмия в условиях отравления кроликов кадмием.

Ключевые слова: кадмий, биоэлементы, добавление, моча, кролик