

## Odlaganje i eliminacija olova iz zubi mladih i odraslih štakora

Marija Soljačić, Dora Gabrić i Ivan Piljac

Zavod za fiziologiju Medicinskog fakulteta i Laboratorij za opću i anorgansku kemiju i elektroanalizu Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Sveučilište u Zagrebu

### Sažetak

Svrha istraživanja bila je da se uspoređi dinamika odlaganja i eliminacije olova iz zubi mladih i odraslih štakora trovanih olovom. Štakori su trovani olovom peroralnim putem, dodatkom olovnog acetata u vodu za piće. Koncentraciju olova u zubima određivali smo anodnom stripping voltametrijom. U prvom dijelu pokusa štakori su 30 dana za piće dobivali 2,64 mmol/L otopinu olovnog acetata. U tom razdoblju smo u šest navrata odredili koncentraciju olova u zubima. U nastavku pokusa štakori su 60 dana dobivali za piće vodovodnu vodu. Koncentraciju olova u zubima odredili smo u ovom dijelu pokusa u četiri navrata. Dobiveni rezultati pokazuju da je i akumulacija i eliminacija olova iz zubi mladih štakora brža nego iz zubi odraslih štakora.

**ključne riječi:** zubi, olovo, depozicija, eliminacija

Među faktorima onečišćenja čovjekove okoline jednu od vodećih uloga zauzima olovo. Ono je u velikoj mjeri prisutno ne samo u industrijskim područjima, već praktički u svim urbanim sredinama, jer ispušni plinovi motornih vozila sadrže velike količine olovnih spojeva (Georgii i Jost<sup>1</sup>). Olovo i njegovi anorganski spojevi apsorbiraju se uglavnom putem dišnog i probavnog sustava, dok se organski spojevi primaju i kroz kožu (Kehoe<sup>2</sup>). Dospjevši u organizam olovo se putem krvi raspoređuje u meka i tvrda tkiva (Rabinowitz i sur.<sup>3</sup>, Batschelet i sur.<sup>4</sup>). Nakon prestanka trovanja koncentracija olova se u krvi i u mekim tkivima relativno brzo smanjuje (Kehoe<sup>2</sup>), jer se olovo prebacuje u tvrda tkiva i tamo se trajnije deponira u razmjerno netoksičnom obliku (Barry<sup>5</sup>). Zbog toga su kosti i zubi dobar pokazatelj zaliha olova u organizmu.

Budući da su zubi, za razliku od kostiju, lako pristupačan materijal mnoga su istraživanja metabolizma olova vršena na ljudskim zubima. Da bi se dobio uvid u to koliko je ljudska populacija izložena olovu, zadnjih su godina u mnogim zemljama Evrope i Amerike provedene detaljne analize koncentracije olova u mliječnim zubima (Mackie i sur.<sup>6</sup>, Ewers i sur.<sup>7</sup>, Winneke i sur.<sup>8</sup>, Needleman i sur.<sup>9</sup>). Dok su u djece mliječni zubi lako pristupačan materijal za ispitivanje deponiranog olova, u odraslih to nije slučaj. Stoga se uz detaljno razrađene metode određivanja olova *in vitro* u caklini i dentinu (Brudevold i sur.<sup>10</sup>, Needleman i sur.<sup>11</sup>, Burdē i Shapiro<sup>12</sup>) pokušavaju pronaći nove metode i za određivanje olova u zubima *in vivo* (Shapiro i sur.<sup>13</sup>).

U eksperimentalnim uvjetima štakori su životinje koje se veoma često koriste za istraživanje intoksikacije olovom. Međutim, u pregledanoj literaturi našli smo relativno malo podataka o akumulaciji olova u zube štakora. Treba, naime, imati na umu da se, za razliku od ljudskih zubi, zubna tkiva štakora svakodnevno abrazijom troše i stalno obnavljaju (Schour i Massler<sup>14</sup>). Kinetika odlaganja ili pak eliminacije olova iz zubi eksperimentalnih životinja ispitivana je uglavnom nakon jednokratnog injiciranja olovnih soli (Momčilović i Kostial<sup>15</sup>), dok podatke o detaljnom ispitivanju kinetike odlaganja i eliminacije olova iz zubi štakora dugotrajno tretiranih olovom nismo našli. To nas je potaklo da u našem eksperimentalnom proučavanju metabolizma olova ovaj problem pobliže ispitamo na životinjama postepeno trovanim olovom tokom dužeg vremena.

Nadalje, novija istraživanja pokazuju da je apsorpcija olova u probavnom traktu veća u mladim organizama nego u odraslih (Kostial i sur.<sup>16</sup>, Lin-Fu<sup>17</sup>), te da su mladi osjetljiviji na toksično djelovanje olova (Barltrop i sur.<sup>18</sup>). Zbog toga smo u našem radu odlučili usporedo pratiti promet olova u zubima mladih i odraslih štakora.

U našem smo opsežnom istraživanju (Soljačić<sup>19</sup>) ispitivali promet olova u tvrdim tkivima (zubi i kosti) i u mekom tkivu (bubrezi). Za ovaj smo prikaz odabrali dio rada koji se odnosi na odlaganje i eliminaciju olova iz zubi pokusnih životinja trovanih olovnim acetatom. Svrha istraživanja bila je da se usporedi dinamika navedenih procesa u mladim i odraslim životinja. Pokus je trajao 90 dana. U prvom dijelu pokusa, koji je trajao 30 dana, štakori su trovani otopinom olovnog acetata u piću. Tokom ove faze pokusa žrtvovano je po 6 mladih i 6 odraslih životinja nakon 0, 4, 10, 15, 20. i 30. dana. Drugi je dio pokusa trajao 60 dana nakon prestanka trovanja. U toj fazi žrtvovano je po 6 mladih i 6 odraslih štakora 4, 15, 30. i 60. dana, što u stvari znači 34, 45, 60. i 90. dana pokusa. Tim su životinjama uzeti zubi za određivanje koncentracije olova.

## MATERIJAL I METODE

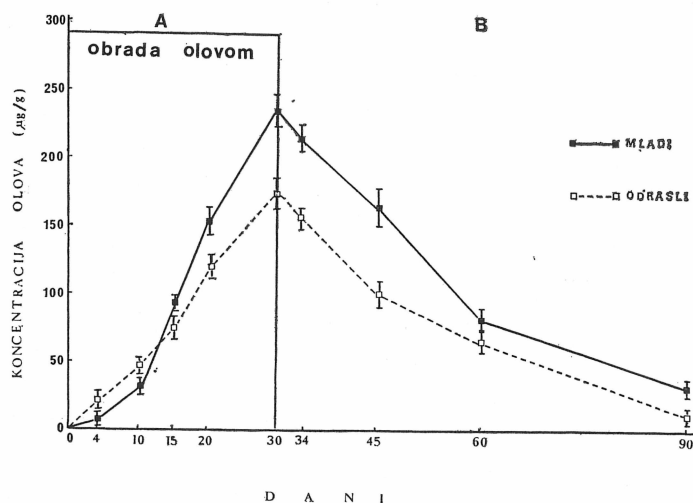
U našim smo pokusima koristili mlade i odrasle muške albino štakore Wistar soja. Skupinu mladih životinja sačinjavalo je 60 štakora u dobi od 40–50 dana, a skupinu odraslih sačinjavalo je 60 štakora u dobi od 3–5 mjeseci. Sve su životinje u toku pokusa hranjene ad libitum standardiziranom, laboratorijskom, peletiranom hranom proizvodnje »Pliva« (Zagreb). U vrijeme trovanja svi su štakori kao jedino piće dobivali otopinu olovnog acetata, a u daljnjem toku pokusa vodovodnu vodu. Toksična otopina priređivana je otapanjem olovnog acetata (»Alkaloid«, Skopje) u vodovodnoj vodi u koncentraciji od 2,64 mmol/L uz dodatak 2–3 kapi koncentrirane octene kiseline za sprečavanje taloženja. Takva otopina sadrži 1 mg olova u 1 ml tekućine. Ova koncentracija olovnog acetata odabrana je stoga što smo u preliminarnim pokusima ustanovili da štakori takvu otopinu piju u količini koja je približno jednaka primanju vode u normalnim uvjetima. Opisani način trovanja izabrali smo zato što veoma dobro imitira postupno trovanje olovom »prirodnim putem« iz okoline, a osim toga ne uzrokuje neželjene nuspojave kao što se događa pri davanju olovnih spojeva injekcijama ili pomoću želučane sonde.

Za određivanje koncentracije olova štakorima su neposredno poslije žrtvovanja vađena 2 gornja i 2 donja sjekutića. Ti su zubi zatim čišćeni i vagani, pc

sušeni 24 sata na temperaturi od 104<sup>0</sup> C. Određivanje koncentracije olova vršeno je anodnom stripping voltametrijom na živinnoj film elektrodi, koja daje veoma precizne podatke (Piljac i sur.<sup>20</sup>). Za mjerenje se uzima oko 100 mg smrvljenog materijala, rasčinjenog pomoću perklorne i dušične kiseline pri povišenoj temperaturi. Od svakog uzorka priređivane su tri paralelne probe i jedna slijepa proba. Svaka paralelna proba triput je uzastopno snimana uz slijepu probu. Pomoću baždarnog dijagrama za olovo očitovana je koncentracija olova u uzorku, te se od 9 proba izračunavala srednja vrijednost koncentracije olova izražena u  $\mu\text{g/g}$  uzorka. Statistička obrada vršena je Studentovim t-testom.

## REZULTATI I DISKUSIJA

Otopinu olovnog acetata, koja im je 30 dana bila jedino piće, pile su i mlade i odrasle životinje u prosječnoj količini od približno 9 ml/100 g tjelesne mase na dan. Utjecaj trovanja ovom otopinom na koncentraciju olova u zubima mladih i odraslih štakora prikazuje grafikon na slici 1. U fazi trovanja koncentracija olova naglo se je povećavala i u zubima mladih i u zubima odraslih životinja. Do 10. dana akumulacija olova bila je veća u zubima odraslih štakora, ali se u daljnjem toku trovanja brže povećavala u zubima mladih nego u zubima odraslih. Dvadesetog i 30. dana trovanja koncentracija olova u zubima mladih životinja bila je signifikantno veća nego u zubima odraslih životinja ( $p < 0.05$  i  $p < 0,005$ ). U drugom dijelu pokusa, kada životinje više nisu dobivale otopinu olovnog acetata, eliminacija olova iz zubi tekla je tako da je koncentracija olova do kraja pokusa, izuzev 60. dana, ostala signifikantno viša u zubima mladih štakora nego u zubima odraslih životinja (34, 45. i 90. dan  $p < 001$ ).



Slika 1. Koncentracija olova u zubima mladih i odraslih štakora u toku odlaganja (A) i eliminacije (B) olova. (Svaka točka predstavlja  $X \pm \text{SEM}$ )

U ovom smo pokusu ustanovili da je u toku 30-dnevnog trovanja koncentracija olova u zubima ovisna o trajanju intoksikacije. Pritom je akumulacija olova u zubima mladih značajno veća nego u zubima odraslih životinja. U jednom od ranijih pokusa (Soljačić<sup>19</sup>) provodili smo trovanje olovom 150 dana. Rezultati su pokazali da se u mladim štakora koncentracija olova u zubima nakon 30 dana trovanja zadržava praktički na stalnoj razini, usprkos daljnjem unošenju toksične otopine. Nasuprot tome, u zubima odraslih koncentracija olova se i nakon 30 dana trovanja sporo povećava i ne postiže plato. Svi ovi podaci uzeti zajedno pokazuju veliku ovisnost akumulacije olova u zubima o starosti intoksiciranog organizma.

Prateći eliminaciju olova iz zubi ustanovili smo da je tokom čitavog tog razdoblja (od 30–90. dana pokusa) koncentracija olova u zubima mladih ostala na višoj razini nego u zubima odraslih štakora. Odstranjivanje olova nakon prestanka trovanja u obje je skupine u početku bilo brže, a zatim se usporilo. Na kraju pokusa mladi su štakori još uvijek imali veću koncentraciju olova u zubima nego odrasli, ali je ta razlika bila mnogo manja nego na početku faze eliminacije, što pokazuje da dinamika procesa eliminacije olova iz zubi nije jednaka u mladim i odraslim organizmima.

## ZAKLJUČAK

U uvjetima 30-dnevnog trovanja štakora otopinom olovnog acetata u piću ustanovili smo da je konačno postignuta koncentracija olova u zubima mladih značajno veća nego u zubima odraslih štakora. Nakon prestanka trovanja, u toku 60-dnevnog praćenja eliminacije olova zapazili smo da ovaj proces u početku teče relativno brzo u obje skupine, a zatim se donekle usporava. Ukupna eliminacija olova iz zubi mladih životinja bila je veća nego iz zubi odraslih štakora. Ovi su podaci u skladu s ostalima koje smo prikupili u našem opsežnom istraživanju prometa olova, tj. i oni potvrđuju da efekti trovanja, osim o ostalim faktorima, ovise i o životnoj dobi intoksiciranog organizma.

## Literatura

1. GEORGII, H. W., JOST, D.: On the lead concentration in an urban aerosol, *Atmo. Envir.*, 5:725, 1971.
2. KEHOE, R. A.: Pharmacology and toxicology of heavy metals: Lead, *Pharmac. Ther. A*, 1:161, 1976.
3. RABINOWITZ, B. M., WETHERILL, G. W., KOPPLE, J. D.: Kinetic analysis of lead metabolism in healthy humans, *J. Clin. Invest.*, 58:260, 1976.
4. BATSCHLET, E., BRAND, L., STEINER, A.: On the kinetics of lead in the human body, *J. Math. Biology*, 8:15, 1979.
5. BARRY, P. S. I.: A comparison of concentration of lead in human tissues, *Brit. J. Industr. Med.*, 32:119, 1975.
6. MACKIE, A. C., STEPHENS, R., TOWNSHEND, A., WALDRON, H. A.: Tooth lead levels in Birmingham children, *Arch. Environ. Health*, 32:178, 1977.
7. EWERS, U., BROCKHAUS, A., WINNEKE, G., FREIER, I., JERMANN, E., KRAMMER, U.: Lead in deciduous teeth of children living in a non-ferrous smelter area and a rural area of the FRG, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 50:139, 1982.
8. WINNEKE, G., HRDINA, K. G., BROCKHAUS, A.: Neuropsychological studies in children with elevated tooth-lead concentrations, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 51:169, 1982.

9. NEEDLEMAN, H. L., TUNCAY, O. C., SHAPIRO, I. M.: Lead levels in deciduous teeth in urban and suburban American children, *Nature*, 235:111, 1972.
10. BRUDEVOLD, F., AASENDEN, R., SRINIVASIAN, B. N., BAKHOS, Y.: Lead in enamel, saliva and dental caries and the use of enamel biopsies for measuring past exposure to lead, *J. Dent. Res.*, 56:1165, 1977.
11. NEEDLEMAN, H. L., DAVIDSON, I., SEWELL, E. M., SHAPIRO, I. M.: Subclinical lead exposure in Philadelphia school-children. Identification by dentin lead analysis, *N. Engl. J. Med.*, 290:245, 1974.
12. BURDÉ, de la B., SHAPIRO, I. M.: Dental Lead, blood lead and Pica in urban children, *Arch. Environ. Health*, 30:281, 1975.
13. SHAPIRO, I. M., BURKE, A., MITCHELL, G., BLOCH, P.: X-ray fluorescence analysis of lead in teeth of urban children in situ: correlation between the tooth lead level and the concentration of blood lead and free erythroporphyrins, *Environ. Research*, 17:46, 1978.
14. SCHOUR, I., MASSLER, M.: u: Griffith, J. Q. i Farris, E. J.: »The rat in laboratory investigation«, Lippincot, Philadelphia, Ch. 6, str. 102, 1942.
15. MOMČILOVIĆ, B., KOSTIAL, K.: Kinetics of lead retention and distribution ni suckling and adult rats, *Environ. Res.*, 8:214, 1974.
16. KOSTIAL, K., SIMONOVIĆ, I., PIŠONIĆ, M.: Lead apsorbtion from the intestine in new born rats, *Nature*, 223:564, 1971.
17. LIN-FU, J. S.: Vulnerability of children to lead exposure and toxicity, *N. Engl. Med.*, 289:1229 i 1289, 1973.
18. BARLTROP, D., BURMAN, D., TUCKER, S.: BPA childhood lead poisoning survey, *Arch. Dis. Childh.*, 51:809, 1976.
19. SOLJAČIĆ, M.: Odlaganje olova u zube, kosti i bubrege štakora tretiranih olovnim acetatom u piću, te utjecaj olova na kompenzacijski rast bubrega, Disertacija, Zagreb, 1980.
20. PILJAC, I., TKALČEC, M., SAFTIĆ, M.: Određivanje teških metala u biološkim materijalima metodom anodne stripping voltametrije, *Prehrambeno-tehnološka revija*, 1:3, 1977.

#### THE DEPOSITION AND ELIMINATION OF LEAD FROM TEETH IN YOUNG AND ADULT RATS

##### Summary

The aim of the research was to compare the dynamics of the deposition and elimination of lead from the teeth in young and adult rats which had been poisoned by lead. The rats were poisoned by the addition of lead acetate to their drinking water. We determined the lead concentration in the teeth by anodal stripping voltametry.

In the first part of the experiment, for thirty days, the rats were given 2,64 nmol/L lead acetate in solution to drink. Within that period the lead concentration in the teeth was six times determined. Continuing the experiment the rats received tap water to drink. In this part of the experiment the lead concentration in the teeth was four times measured. The achieved results show that the accumulation and elimination of the lead from the teeth in young rats was faster than those of adult rats.

**Key words:** teeth, lead deposition, elimination.