

## UTICAJ POVEĆANOG UNOŠENJA KADMIJUMA NA ANTIOKSIDATIVNI ZAŠTITNI SISTEM

Vesna Matović, Zorica Plamenac-Bulat, Danijela Đukić

Institut za toksikološku hemiju, Farmaceutski fakultet, Beograd

**Kratak sadržaj:** Poslednjih decenija je dokazano da mnogi ksenobiotici (određeni rastvarači, pesticidi, metali, pa i lekovi) izazivaju u organizmu povećan nastanak slobodnih radikala koji remete ćelijske funkcije lipida, proteina, nukleinskih kiselina, što može dovesti i do smrti ćelije. Među njima, značajno mesto zauzima i kadmijum, uzročnik profesionalnih trovanja ali i jedan od značajnih zagađivača čovekove okoline. Brojna istraživanja ukazuju da povećano unošenje kadmijuma uzrokuje oksidativnu modifikaciju biomolekula, ali ostaje nerazjašnjeno pitanje da li je njegovo dejstvo direktno i/ili indirektno. U cilju objašnjenja mehanizama oksidativnih oštećenja tkiva koje izaziva ovaj toksični metal, u radu je dat prikaz uticaja akutnog i hroničnog trovanja kadmijumom na aktivnost sistema antioksidativne odbrane organizma. Eksperimentalne studije pokazuju da kadmijum ima negativan uticaj na aktivnost enzima antioksidativne zaštite (superoksid-dizmutazu, katalazu, glutation-peroksidazu, glutation-S-transferazu), kao i na neenzimske komponente antioksidativne zaštite (askorbinsku kiselinu,  $\alpha$ -tokoferol, koenzim Q, glutation i metalotioneine).

**Cljučne reči:** kadmijum, antioksidativni zaštitni sistem, eksperimentalne studije

### Uvod

Iako otkriven početkom devetnaestog veka, kadmijum je danas svrstan u grupu najznačajnijih metala sa aspekta profesionalne i ekotoksikologije. Poznato je da ovaj metal, sa izraženim kumulativnim dejstvom, izaziva niz štetnih efekata u organizmu posebno na nivou bubrega, pluća i skeletnog sistema, a može biti i uzročnik karcinoma pluća i testisa. Međutim, mehanizmi toksičnosti kadmijuma nisu u potpunosti razjašnjeni. Različiti biohemijski poremećaji koje ovaj toksični metal izaziva u organizmu objašnjavaju se njegovim dejstvom na ključne enzime organizma i interakcijom sa bioelementima. Novijim ispitivanjima je pokazano da je kadmijum i uzročnik nastanka oksidativnih oštećenja lipida, proteina i DNK. Jedan od prvih dokaza da kadmijum izaziva povećanje lipidne peroksidacije dao je 1986. god. Müller (1), što je potom potvrđeno mnogobrojnim istraživanjima. Postavilo se pitanje kako ovaj metal, koji ne može da učestvuje u redoks reakcijama organizma (za razliku od gvožđa, bakra i drugih metala sa promenljivom valencom),

indukuje nastanak oksidativnog stresa. Ovaj efekat se delom može objasniti povećanjem sadržaja gvožđa (katalizatora Fentonove reakcije), koje izaziva kadmijum (2). Međutim, brojna *in vivo* i *in vitro* ispitivanja su ukazala da povećano unošenje kadmijuma može indirektno da izazove produkciju slobodnih radikala i oksidativni stres svojim inhibitornim dejstvom na antioksidativni zaštitni sistem organizma.

### Antioksidativni zaštitni sistem

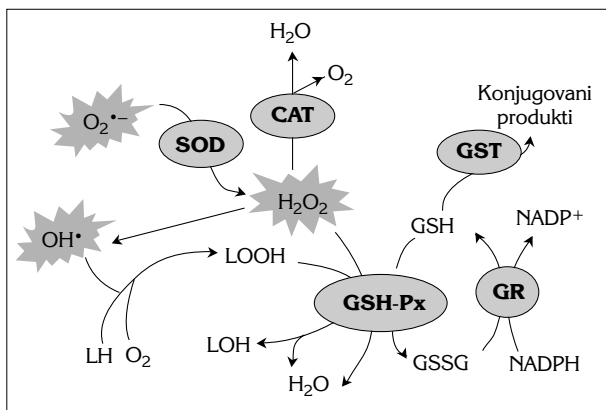
Uspostavljen tokom evolutivnog razvoja, sa ulogom da štiti organizam od štetnog dejstva slobodnih radikala, antioksidativni zaštitni sistem obuhvata enzimске i neenzimske komponente. Prema Halliwellu

#### Skraćenice:

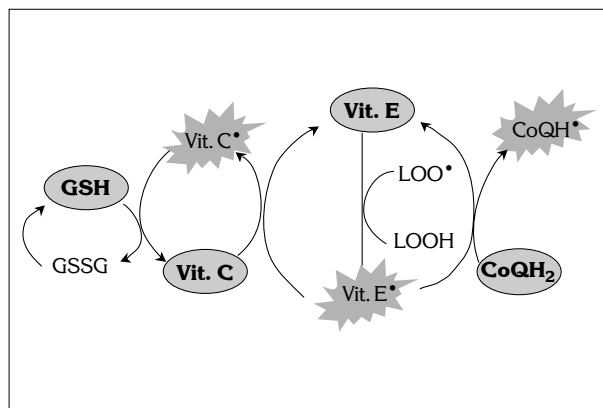
SOD, superoksid-dizmutaza; CAT, katalaza; GSH-Px, glutation-peroksidaza; GR, glutation-reduktaza; GST, glutation-S-transferaza;  $O_2^{\bullet-}$ , superoksid anjon radikal;  $OH^{\bullet}$ , hidroksilni radikal; LH, nezasićena masna kiselina; LOOH, organski hidroperoksid; LOH, hidroksi masna kiselina (razgradni produkt organskog hidroperoksida); GSH, glutation (redukovani oblik); GSSG, oksidovani oblik glutationa, Vit. E, vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol); Vit. E $^{\bullet}$ , radikal vitamina E (tokoferoksil radikal); Vit. C, vitamin C (askorbinska kiselina); Vit. C $^{\bullet}$ , radikal vitamina C (askorbil radikal), CoQH $_2$ , vitamin Q (redukovani oblik CoQ), CoQH $^{\bullet}$ , radikal vitamina Q; LOO $^{\bullet}$ , peroksil radikal, LOOH; organski hidroperoksid.

#### Adresa autora

Vesna Matović  
Farmaceutski fakultet  
11221 Beograd, Vojvode Stepe 450  
vevod@pharmacy.bg.ac.yu



Slika 1. Prikaz enzimskog antioksidativnog zaštitnog sistema organizma



Slika 2. Najznačajniji neenzimski antioksidansi i njihova povezanost u ostvarivanju antioksidativne zaštite organizma

(3, 4) glavni kriterijum po kome neko jedinjenje pripada antioksidativnom sistemu je mogućnost da, u malim koncentracijama u poređenju sa supstratom koji se oksidiše, značajno odloži ili spreči njegovu oksidaciju.

Antioksidativni sistem u ljudi objedinjuje više nivoa zaštite koji se mogu podeliti na:

1) *primarne* – enzimske: superoksid-dizmutaza (SOD), katalaza (CAT), glutation-peroksidaza (GSH-Px), glutation-reduktaza (GR), glutation-S-transferaza (GST) i neenzimske komponente: glutation (GSH), askorbinsku kiselinu (vitamin C),  $\alpha$ -tokoferol (vitamin E),  $\beta$ -karoten, koenzim Q (CoQ), metalotionein (MT).

2) *sekundarne* – protein specifične oksidoreduktaze (tiol-transferaza, protein-ADP-ribozil-transferaza i ATP i  $\text{Ca}^{2+}$ -nezavisna transferaza) (5, 6).

Antioksidativni sistem ima značajnu ulogu u zaštiti pri ćelijskim oštećenjima koja izazivaju različiti ksenobiotici, pa i kadmijum. Primarni antioksidansi sprečavaju stvaranje reaktivnih vrsta kiseonika (eng. *reactive oxygen species*, ROS) i predstavljaju prvu liniju odbrane ćelija od oksidativnog stresa. Posebno su značajni tzv. antioksidativni enzimi, čija je uloga prikazana na slici 1.

SOD ubrzava dismutaciju superoksidnog anjona tj. nastanak  $\text{H}_2\text{O}_2$  iz  $\text{O}_2^{\bullet-}$ , CAT katalizuje razgradnju nastalog  $\text{H}_2\text{O}_2$  do vode i molekuskog kiseonika, a GSH-Px redukuje  $\text{H}_2\text{O}_2$  i reaktivne hidroperokside masnih kiselina. Za reakciju koju katalizuje GSH-Px neophodan je glutation kao kofaktor. U ovoj reakciji glutation se oksiduje do GSSG, koji se pomoću GR uz NADPH kao kofaktor redukuje do GSH (7, 8).

Brojne studije ukazuju da kadmijum utiče na navedene enzimske i neenzimske komponente antioksidativne odbrane. Vitamin E može da reaguje sa peroksid radikalima i time prekine lančanu reakciju lipidne peroksidacije. Antioksidativna uloga vitamina C zasniva se na njegovoj sposobnosti da predaje elektrone slobodnim radikalima (9, 10), da kompleksira metale koji

učestvuju u ciklusu redoks reakcija, a svoju antioksidativnu aktivnost ostvaruje i regenerisanjem vitamina E (11, 12). Uloga najznačajnijih neenzimskih komponenta antioksidativne zaštite prikazana je na slici 2.

### Uticaj kadmijuma na enzime antioksidativne zaštite

#### Superoksid-dizmutaza

Sredinom dvadesetog veka izolovani su proteini iz krvi, jetre, eritrocita i mozga za koje je dokazano da sadrže bakar, a potom i cink u svojoj strukturi. McCord i Fridovich (13) su 1969. godine pokazali da eritrocitni kuprein može da »neutrališe« superoksid anjon radikal i nazvali ga superoksid-dizmutaza (SOD, EC 1.15.1.1). Tri izoenzimske forme SOD: bakar, cink-zavisna SOD (Cu, Zn SOD), mangan-zavisna (Mn SOD) i ekstracelularna SOD (EC SOD) mogu katalizovati reakciju nastanka  $\text{H}_2\text{O}_2$  i molekuskog kiseonika iz superoksid anjon radikala  $\text{O}_2^{\bullet-}$ , ali u sistemu zaštite organizma od dejstva različitih ksenobiotika, pa i kadmijuma, najveću ulogu ima Cu, Zn SOD.

Brojna ispitivanja su pokazala da akutno trovanje kadmijumom izaziva promene aktivnosti ovog enzima u eritrocitima i u drugim tkivima eksperimentalnih životinja tretiranih različitim dozama ovog metala. Smanjenje aktivnosti SOD u eritrocitima (14–17) kao i u ćelijama jetre, bubrega i srca (18–23) dokazano je nakon primene jednokratne toksične doze kadmijuma. Kadmijum veoma brzo dovodi do inhibicije ovog osetljivog enzima antioksidativne zaštite, što se može objasniti interakcijom kadmijuma i bioelemenata koji ulaze u njegov sastav, ali i direktnim dejstvom kadmijuma na izoenzime SOD (23). Ovim se može objasniti i brz nastanak lipidne peroksidacije (LP) (14, 24, 25) u ovim tkivima. Međutim, kao rezultat dejstva kadmijuma na mitohondrijalni oksidativni mehanizam i njegove stimulacije odbrambenih mehanizama organizma već 24 h nakon davanja ovog toksičnog metala dolazi do povećanja aktivnosti ovog enzima (26–28).

Pri produženoj izloženosti nižim dozama ovog metala povećano je stvaranje superoksid anjon radikala u eritrocitima, koji nastaje prvenstveno u procesu autooksidacije oksihemoglobina (29, 30), što ima za posledicu aktivaciju zaštitnih mehanizama organizma i značajno povećanje aktivnosti ukupne SOD u eritrocitima (15, 31). Porast aktivnosti enzima SOD utvrđena je i u serumu hronično trovanih životinja, pri čemu autori navode da se povećani nivo ovog značajnog enzimskog antioksidansa može dovesti u vezu s povećanjem sadržaja bakra pod dejstvom kadmijuma, odnosno stabilizacijom CuZn-superoksid-dizmutaze (32).

Ispitivanja aktivnosti SOD u jetri, bubregu, srčanom i skeletnom mišiću pri produženoj ekspoziciji kadmijumu su dala oprečne rezultate. Izvestan broj autora ukazuje na povećanje aktivnosti ovog enzima (33–35), dok drugi navode smanjenje njene aktivnosti (20, 36–40). To se najpre može objasniti primenom različitih doza, kao i dužinom ekspozicije, a ima podataka da i starost životinja utiče na aktivnost ovog enzima (41, 42).

#### Katalaza

Katalaza (CAT EC 1.11.1.6) ima značajnu ulogu u odbrani organizma od oksidativnih oštećenja. Lokalizovana je pretežno u peroksisomima ćelija sisara sa izraženom aktivnošću u eritrocitima i jetri. Antioksidativnu ulogu ovaj enzim ostvaruje razgradnjom toksičnog vodonik peroksida do vode i molekularnog kiseonika. U zavisnosti od brzine nastajanja  $H_2O_2$  i koncentracije donora vodonika odvijaće se brzi ili spori tip reakcije katalaze.

Kadmijum ispoljava sličan efekat i pri akutnoj i pri hroničnoj ekspoziciji na CAT kao i na SOD, s obzirom da je njena aktivnost direktno proporcionalna sadržaju supstrata  $H_2O_2$ , koji nastaje u reakciji katalizovanoj SOD (43, 44). Jednokratna primena kadmijuma u dozi od 0,4 mg/kg t.m. intraperitonealno pacovima vrlo brzo (posle 9 h) značajno smanjuje aktivnost ovog enzima u eritrocitima eksperimentalnih životinja, što je praćeno oštećenjem membrane eritrocita lipidnom peroksidacijom (15, 26). Međutim, nekoliko dana po akutnoj ekspoziciji uočava se smanjenje sadržaja razgradnih produkata lipidne peroksidacije i porast nivoa antioksidativnih enzima u eritrocitima, kako SOD, tako i CAT, što ukazuje na efikasnu odbranu organizma od oksidativnih oštećenja (15, 16).

Nasuprot rezultatima uticaja akutne ekspozicije kadmijuma na CAT, pri dužoj izloženosti ovom toksičnom agensu aktivnost CAT u eritrocitima pacova je značajno povećana (17, 31). Rezultati eksperimentalnih istraživanja aktivnosti CAT u jetri, bubregu, srcu i skeletnom mišiću pri jednokratnom davanju ili produženoj ekspoziciji kadmijumu ne daju potpun i jedinstven odgovor (20, 26, 35, 36, 42, 45). Sarkar i sar. (26) su dokazali da pojedinačna doza kadmijuma

značajno ne menja aktivnost CAT u jetri i bubregu, za razliku od rezultata koji se odnose na aktivnost ovog enzima u srcu, gde je već posle 9 časova dokazano značajno povećanje aktivnosti CAT, a što su potvrdila i ispitivanja Coucelo i sar. (28). Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da aktivnost CAT nije uvek u direktnoj korelaciji sa aktivnošću SOD.

#### Glutation-peroksidaza

Pored toga što razlaže  $H_2O_2$  kao i CAT, glutathion-peroksidaza (GSH-Px, EC 1.11.1.9) razlaže i organske peroksidge (LOOH). Uloga ovog enzima, kao antioksidativne komponente, je posebno značajna pri niskim koncentracijama  $H_2O_2$  u ćeliji, dok je mehanizam zaštite putem CAT dominantan pri visokom sadržaju  $H_2O_2$ .

Toksični efekti kadmijuma na testise, jetru, bubreg i srčani mišić mogu se objasniti i dejstvom kadmijuma na aktivnost GSH-Px u ovim organima. Tako su ispitivanja akutne toksičnosti kadmijuma pokazala da pojedinačna povišena doza kadmijuma inhibira aktivnost ovog enzima u testisima (46), a isti efekat je dokazan i za srce, jetru i bubreg pri hroničnom trovanju (33, 39, 41).

Poznato je da je kadmijum metal sa izraženim kumulativnim dejstvom. Kao posledica deponovanja kadmijuma u tkivima, prvenstveno u jetri i bubrezima, nastaju oksidativna oštećenja, što neki autori objašnjavaju smanjenom aktivnošću Se GSH-Px (42, 47). Uticaj kadmijuma na GSH-Px može se objasniti: a) kompetitivnim antagonizmom kadmijuma i selena, b) kadmijumom indukovanoj »trošenju glutathiona«, c) kadmijumom indukovane inhibicije sinteze proteina i/ili d) kompetitivnom Cd-metalotioneina i GSH-Px za aminokiseline koje sadrže sumpor (47).

#### Glutation-reduktaza

Efekti uticaja kadmijuma potvrđeni su i na glutathion-reduktazu (GR, EC 1.6.4.2) čija je uloga u antioksidativnoj zaštiti manja nego prethodno navedenih enzima, ali se zbog učešća u regeneraciji GSH, važnog ćelijskog antioksidansa, ubraja u antioksidativne enzime.

Eksperimentalnim studijama je utvrđeno da akutno trovanje kadmijumom izaziva posle 72 h inhibiciju aktivnosti GR u srcu, bubrezima i jetri pacova, što je praćeno smanjenjem sadržaja redukovanoj glutathiona (2, 14, 26).

#### Glutation-S-transferaza

U detoksikaciji brojnih ksenobiotika značajnu ulogu ima glutathion-S-transferaza (GST, EC 2.5.1.18) jer je katalizator reakcije njihove konjugacije sa GSH pri čemu nastaju hidrofilni metaboliti. Sem toga, ovaj

enzim katalizuje i reakciju konjugacije glutationa sa endogenim elektrofilima, produktima oksidativnih oštećenja organizma (48).

Povećana aktivnost enzima GST dokazana je u plazmi, jetri, bubregu i skeletnom mišiću eksperimentalnih životinja pri dužoj ekspoziciji kadmijumu, što se objašnjava »uključivanjem« zaštitnih sistema organizma od intoksikacije (15, 31, 33, 35).

### Uticaj kadmijuma na neenzimske komponente antioksidativne zaštite

Neenzimski antioksidansi blokiraju, usporavaju ili menjaju oksidativne promene u ćelijama. Na osnovu rastvorljivosti dele se na:

- liposolubilne (nalaze se u ćelijskim membranama i lipoproteinima) – vitamin E, vitamin A, provitamin A, koenzim Q i
- hidrosolubilne (nalaze se u vodenoj sredini ekstra/intracelularnog prostora) – vitamin C, glutation (GSH), metalotionein (MT), urea, albumin, bilirubin, itd.

Za razliku od enzima, koji ostvaruju antioksidativnu zaštitu prvenstveno neutralisanjem primarnih oksidanasa ( $O_2^{\bullet-}$  i  $H_2O_2$ ), neenzimski antioksidansi uglavnom deluju tako što uklanjaju sekundarne produkte lančanih reakcija u terminalnoj fazi LP-e. Eksperimentalna istraživanja štetnog uticaja kadmijuma pokazuju da ovaj metal izaziva promene i u aktivnosti neenzimskih antioksidanasa. Najviše je proučavan uticaj kadmijuma na vitamin C, vitamin E, redukovani glutation i vitamin Q, koji su i najvažnije neenzimske komponente antioksidativnog zaštitnog sistema organizma (v. Sliku 2).

#### Vitamin C, vitamin E i vitamin Q

Eksperimentalne studije su pokazale da povećano unošenje vitamina C može da umanjiti toksične efekte kadmijuma (49–52), što se može objasniti njegovim kompleksiranjem sa ovim metalom. Pored ovog preventivnog efekta, vitamin C kao efikasan antioksidans može da neutrališe slobodne radikale pre svega hidrosil radikal i superokid anjon radikal, kao i produkte slobodno-radikalnih procesa (npr. produkte lipidne peroksidacije membrana) (53). Ulogu u antioksidativnoj odbrani organizma askorbinska kiselina ostvaruje i regenerisanjem drugih neenzimskih niskomolekulskih antioksidanasa: vitamina E, glutationa i  $\beta$ -karotena (54–56). Prema dosadašnjim istraživanjima može se zaključiti da jednu od najvažnijih antioksidativnih uloga vitamin C ostvaruje upravo regeneracijom  $\alpha$ -tokoferola (12, 54, 55).

Eksperimentalni podaci ukazuju da i vitamin E ispoljava zaštitni efekat od oksidativnih oštećenja izazvanih kadmijumom (57–61). Ovaj efekat  $\alpha$ -tokoferol ostvaruje reakcijom sa peroksidnim radikalima pri

čemu nastaje tokoferoksil radikal, nedovoljno reaktivan da bi preuzeo H iz membranskih lipida što dovodi do prekida lančane reakcije lipidne peroksidacije (62, 63). Tokoferoksil radikal se može redukovati u organizmu do  $\alpha$ -tokoferola, aktivnog oblika vitamina E askorbinskom kiselinom i redukovanim koenzimom Q (12, 54, 55, 64).

Jedna od komponenta antioksidativnog sistema, koja je predmet novijih istraživanja, je koenzim Q (CoQ), ubihinon ili vitamin Q. Za vitamin Q je dokazano da reaguje sa  $O_2^{\bullet-}$  i time ostvaruje svoju ulogu u primarnoj antioksidativnoj zaštiti (65–67). Osim toga, dokazano je da vitamin Q redukuje tokoferoksil radikal do vitamina E i da ima pozitivan efekat na antioksidativnu aktivnost vitamina C u organizmu (64, 68). Eksperimentalni podaci ukazuju na profilaktički efekat vitamina Q u uslovima hronične izloženosti kadmijumu, s obzirom da istovremeno davanje kadmijuma i ovog vitamina dovodi do povećanja aktivnosti enzima GST, GSH-Px i GR, kao i do povećanja koncentracije neenzimskih antioksidanasa vitamina C i vitamina E u tkivima životinja (35, 69–72).

Međutim, neophodno je istaći da antioksidativni vitamini pored toga što štite organizam od oksidativnih oštećenja, uneti u visokim dozama mogu iskazati i prooksidativna svojstva, odnosno mogu čak pospešiti formiranje slobodnih radikala (53, 73–75). Prooksidativna osobina vitamina C se može objasniti njegovom sposobnošću da redukuje  $Fe^{3+}$  i  $Cu^{2+}$  do  $Fe^{2+}$  i  $Cu^+$ , koji su katalizatori Fentonove reakcije (10, 53, 74, 75).

#### Glutation

Glutation-L- $\gamma$ -glutamil-L-cisteinil-glicin (GSH) ima značajnu ulogu u procesu odbrane organizma od štetnih efekata ksenobiotika. Glutation redoks ciklus, pored toga što štiti organizam od endogenih slobodnih radikala, učestvuje i u odbrani od povećanog nastanka slobodnih radikala dejstvom različitih egzogenih supstanci. Glutation takođe ulazi u reakcije konjugacije sa nizom toksičnih supstanci pri čemu nastaju manje toksični produkti (76–78). Kada su u pitanju metali, glutation sa njima gradi i komplekse što predstavlja prvu liniju odbrane ćelija izloženih povećanim dozama toksičnih metala (79–81). Generalno, akutna izloženost metalima, smanjuje sadržaj glutationa formiranjem kompleksa metal-GSH i/ili utroškom u reakciji katalizovanoj GSH-Px u oksidativnom stresu indukovanom metalima, što je pokazano i za kadmijum (82–84). Međutim, *in vitro* ispitivanja su pokazala da sadržaj glutationa zavisi od primenjene doze kadmijuma. Primena niskih doza dovodi do porasta sadržaja ovog tripeptida (85–87) dok visoke koncentracije kadmijuma utiču na smanjenje sadržaja glutationa (88–90).

Činjenica je da je redukovani glutation jedan od bitnih »branioca« organizma od neželjenih efekata

kadmijuma. I pored oprečnih literaturnih podataka (91, 92), najveći broj rezultata eksperimentalnih ispitivanja hronične ekspozicije kadmijumu, kao i *in vitro* ispitivanja na nivo ćelijskog glutaciona ukazuju na njegov porast u organizmu (85, 93–96).

#### *Metalotionein*

U okviru mehanizama toksičnosti kadmijuma značajno mesto zauzimaju metalotioneini (MT). Poznato je da kadmijum indukuje sintezu ovih proteina, bogatih tio grupama, koji imaju ulogu u transportu, deponovanju i zaštiti od štetnih efekata ovog metala (97–100). Eksperimentalna istraživanja ukazuju da metalotioneini učestvuju u odbrani organizma od toksičnog dejstva slobodnih radikala, te su i svrstani u grupu antioksidanasa (101–103). U molekulu metalotioneina, cistein-tiolatne grupe se vezuju sa jonima metala i grade metal-tiolatne grupe (104) koje reaguju sa superoksid anjonom i hidroksilnim radikalom. Smatra se da metalotioneini imaju izraženu sposobnost uklanjanja OH<sup>•</sup> radikala, dok im je uloga u »neutralisanju« O<sub>2</sub><sup>•-</sup> manja u poređenju sa SOD (105, 106).

#### **Zaključak**

Na osnovu iznetih podataka može se zaključiti da kadmijum značajno utiče na enzimске i neenzimске komponente antioksidativnog sistema odbrane organizma, čime se može objasniti njegov uticaj na nastanak oksidativnog stresa, a time bar delimično, i štetnih efekata koje ovaj metal ispoljava u organizmu u uslovima akutnog i hroničnog trovanja. Iako ostaje mnogo toga nedorečenog i nerazjašnjenog, kadmijum u uslovima akutne intoksikacije generalno inhibira aktivnost najznačajnijih enzima antioksidativnog sistema, dok hronična ekspozicija ima za posledicu povećanje njihove aktivnosti. Pretpostavlja se da kadmijum može da reaguje sa enzimima i inhibira njihovu aktivnost. Svi antioksidativni enzimi su metal-zavisni, odnosno sadrže jone metala u svojoj strukturi: superoksid-dizmutaza je Cu,Zn- ili Mn-zavisna, katalaza i glutation-reduktaza sadrže gvožđe, dok se u aktivnom centru enzima glutation-peroksidaze nalazi selen. Kadmijum može konkurisati za iste položaje na enzimu za koje se vezuju metalni joni koji ulaze u sastav enzima ili može uticati na njihove kofaktore, ali može izazvati i promene u regulaciji transkripcije i translacije ovih enzima.

Povećana aktivnost ovih enzima pri dužoj izloženosti kadmijumu se može objasniti aktiviranjem zaštitnih mehanizama organizma, između ostalog povećanom ekspresijom gena i/ili »up-regulation« antioksidativnih enzima. Aktivacija signalnih puteva i pojačana ekspresija gena javljaju se kao odgovor ćelije na oksidativni stres i mogu biti od značaja u adaptaciji i zaštiti ćelije od oksidativnih oštećenja (107). Promene na nivou gena uključuju transkripciju genskih regulatornih faktora, produkciju proteina specifičnih funkcija i generisanje endogenih antioksidanasa, kao što su metalotioneini (MT), hem-oksigenaze i Mn SOD (108).

Različiti rezultati istraživanja, koji su dobijeni posebno za hroničnu ekspoziciju kadmijumu, mogu se objasniti različitim primenjenim dozama, različitim vremenskim intervalima određivanja aktivnosti enzima, različitim vrstama, pa i starošću eksperimentalnih životinja.

Brojni radovi govore o uticaju kadmijuma na glutacion, značajnog »zaštitnika« ćelije od ksenobiotika. Direktno ili indirektno (dejstvom na enzime glutacion redoks ciklusa) akutna intoksikacija kadmijumom, prema većini autora, ima za posledicu smanjenje njegovog sadržaja u organizmu, za razliku od produžene ekspozicije koja izaziva suprotni efekat. Svojim složenim mehanizmom delovanja na antioksidativni zaštitni sistem kadmijum utiče i na sadržaj vitamin C, vitamin E, vitamin Q čija je antioksidativna uloga u organizmu blisko povezana (55, 64, 68).

Molekularni mehanizmi dejstva metalotioneina u uslovima intoksikacije kadmijumom su još uvek nedovoljno proučeni, iako je poznato da su jedan od bitnih faktora zaštite organizma od oksidativnih oštećenja ćelija koje izaziva ovaj metal.

Ostaje problem boljeg sagledavanja mehanizma nastanka oksidativnog stresa dejstvom kadmijuma, a posebno profilakse i terapije oksidativnih oštećenja nastalih dejstvom ovog metala. Već utvrđen antagonizam kadmijuma i nekih bioelemenata, posebno magnezijuma (109, 110), može biti osnova za istraživanja koja će pokazati da li ovaj antagonizam »funkcioniše« i na nivou antioksidativnog sistema zaštite organizma.

*Zahvalnost:* Ovaj rad je delimično finansiran sredstvima sa projekta br. 1432 Ministarstva za nauku, tehnologiju i razvoj Republike Srbije.

## INFLUENCE OF INCREASED CADMIUM INTAKE ON ANTIOXIDATIVE DEFENCE SYSTEM

*Vesna Matović, Zorica Plamenac-Bulat, Danijela Đukić*

*Institute of Toxicological Chemistry, Faculty of Pharmacy, Belgrade*

*Summary:* During the last decades it was proven that many xenobiotics (certain solvents, pesticides, metals and even drugs) induce increased formation of free radicals that cause cell disfunction of lipids, proteins, nucleic acids and even cell death. Cadmium, an important source of occupational as well as environmental pollution, has significant role. Numerous investigations indicate that increased cadmium intake induces oxidative modifications of biomolecules. It is unclear whether this effect is direct and/or indirect, due to the influence of cadmium on antioxidative defence system. This paper presents the effect of acute and chronic cadmium intoxication on antioxidative system in order to give more explanation on mechanism of cell damaging effects of this toxic metal. Experimental studies indicate that cadmium induce negative effects on enzyme activity of antioxidative defence system (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase), as well as on nonenzymatic components (ascorbic acid, alpha-tocopherol, coenzyme Q, glutathione and metallothionein).

*Key words:* cadmium, antioxidative defence system, experimental studies

### Literatura

1. Müller L. Consequences of cadmium toxicity in rat hepatocytes: Mitochondrial disfunction and lipid peroxidation. *Toxicology* 1986; 40: 285–92.
2. Koizumi T, Li ZG. Role of oxidative stress in single-dose, cadmium-induced testicular cancer. *J Toxicol Environ Health* 1992; 37: 25–36.
3. Halliwell B. How to characterize a biological antioxidant. *Free Rad Res Comms* 1990; 9: 1–32.
4. Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human diseases: Curiosity, cause or consequence? *Lancet* 1994; 344: 721–4.
5. Cadenas E. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annu Rev Biochem* 1989; 58: 79–110.
6. Brigelius R. Mixed disulfides: biological function and increase in oxidative stress. In: *Oxidative stress*, ed. (H. Sies), Academic Press, New York 1985: 243–71.
7. Kang YJ. Alteration of antioxidant systems. In: Edward J. Massaro. *Human Toxicology*. New York: CRC Press 1997: 275–81.
8. Kang YJ, Enger MD. Cellular and molecular mechanism of metal toxicities. In: Edward J. Massaro. *Human Toxicology*. New York: CRC Press 1997: 256–75.
9. Frei B. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: Mechanisms of action. *Am J Med* 1994; 97: 5S–13S.
10. Padh H. Cellular functions of ascorbic acid. *Biochem Cell Biol* 1990; 68: 1166–73.
11. Halliwell B, Gutteridge JMC. Lipid peroxidation: A radical chain reaction. In: Halliwell B, Gutteridge JMC, *Free radicals in biology and medicine*. Clarendon Press, Oxford, 1985: 139–187.
12. Tanaka K, Hashimoto T, Tokumaru S, Iguchi H, Kojo S. Interactions between vitamin C and vitamin E are observed in tissues of inherently scorbutic rats. *J Nutr* 1997; 127: 2060–4.
13. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase and enzymatic function for erythrocyte (hemocupreine). *J Biol Chem* 1969; 244: 6049–55.
14. Sarkar S, Yadav P, Bhatnager D. Cadmium-induced lipid peroxidation and the antioxidant system in rat erythrocytes: the role of antioxidant. *J Trace Elem Med Biol* 1997; 11: 8–13.
15. Sarkar S, Yadav P, Bhatnager D. Lipid peroxidative damage on cadmium exposure and alterations in antioxidant system in rat erythrocytes: a study with relation to time. *Biomaterials* 1998; 11 (2): 153–7.
16. Žikić RV, Štajn AŠ, Ognjanović BI, Pavlović SZ, Saičić ZS. Activities of superoxide dismutase and catalase in erythrocytes and plasma transaminases of Carps (*Cyprinus carpio* L.) exposed to cadmium. *Physiol Res* 1997; 46: 391–6.
17. Žikić RV, Štajn A, Pavlović SZ, Ognjanović BI, Saičić ZS. Activities of superoxide dismutase and catalase in erythrocytes and plasma transaminases of goldfish (*Carassius auratus gibelio* Bloch.) exposed to cadmium. *Physiol Res* 2001; 50: 105–11.
18. Hussain T, Shukla GS, Chandra SF. Effects of cadmium on superoxide dismutase and lipid peroxidation in liver and kidney of growing rats: In vivo and in vitro studies. *Pharmacol Toxicol* 1987; 60: 355–8.

19. Jamall IS, Malini N, Sprowls JJ, Trombetta LD. A comparison of the effects of dietary cadmium on heart and kidney antioxidant enzymes: Evidence for the greater vulnerability of the heart to cadmium toxicity. *J Appl Toxicol* 1989; 9: 339–45.
20. Žikić RV, Štajn A, Saičić ZS, Spasić MB, Ziemnicki K, Petrović VM. The activities of superoxide dismutase, catalase and ascorbic acid in the liver of goldfish (*Carassius auratus gibelio* Bloch.) exposed to cadmium. *Physiol Res* 1996; 45 (6): 479–81.
21. Novelli EL, Vieira EP, Rodrigues NL, Ribas BO. Risk assessment of cadmium toxicity on hepatic and renal tissues of rats. *Environ Res* 1998; 79 (2): 102–5.
22. Manca D, Ricard AC, Trottier B, Chevalier G. Studies on lipid peroxidation in rat tissues following administration of low and moderate doses of cadmium chloride. *Toxicology* 1991; 67: 303–23.
23. Casalino E, Calzaretto G, Sblano C, Landriscina C. Molecular inhibitory mechanisms of antioxidant enzymes in rat liver and kidney by cadmium. *Toxicology* 2002; 178 (1–2): 37–50.
24. Matović V, Černak I, Plećaš B, Stojanović Z. Akutno trovanje kadmijumom i oksidativni stres u plazmi kunića. *Jugoslav Med Biohem* 1998; 17 (3): 326–7.
25. Plamenac Z, Đukić D, Matović V. Contribution to the investigation of the effect of cadmium on lipid peroxidation: an experimental study. 8th Yugoslav Congress of Toxicology with international participation; 2002 Tara; Arch Toxicol Kinet Xenobiot Metab 2002; 10 (1–2): 57–8.
26. Sarkar S, Yadav P, Trivedi R, Bansal AK, Bhatnagar D. Cadmium-induced lipid peroxidation and the status of the antioxidant system in rat tissues. *J Trace Elem Med* 1995; 9: 144–7.
27. Gupta S, Athar M, Behari JR, Srivastava RC. Cadmium-mediated induction of cellular defence mechanism: a novel example for the development of adaptive response against a toxicant. *Ind Health* 1991; 29(1): 1–9.
28. Coucelo JM, Joaquim, Correia V, Bebianno MJ, Coucelo JA. Cellular responses to cadmium toxicity in the heart, kidney and liver of *Halobatrachus didactylus*. *Ecotoxicol Environ Restor* 2000; 3 (1): 29–35.
29. Amoruso MA, Witz G, Goldstein BD. Enhancement of rat and human phagocyte superoxide anion radical production by cadmium in vitro. *Toxicol Lett* 1982; 10: 133–8.
30. Fridovich I. Superoxide dismutase. *Annu Rev Biochem* 1975; 44: 147–59.
31. Kostić MM, Ognjanović B, Dimitrijević S, Žikić RV, Štajn A, Rosić GL, Živković RV. Cadmium-induced changes of antioxidant and metabolic status in red blood cells of rats: in vivo effects. *Eur J Haematol* 1993; 51 (2): 86–92.
32. Scoczynska A, Smolik R. The effect of combined exposure to lead and cadmium on serum lipids and lipid peroxides level in rats. *Inter J Occup Med Environ Health* 1994; 7 (3): 263–71.
33. Jamall I, Smith J. Effects of cadmium on glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and lipid peroxidation in the rat heart: a possible mechanism of cadmium cardiotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985; 80 (1): 33–42.
34. Žikić RV, Štajn A, Ognjanović B, Saičić ZS, Kostić MM, Pavlović SZ, Petrović VM. The effect of cadmium and selenium on the antioxidant enzyme activities in rat heart. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1998; 17(3&4): 259–64.
35. Pavlović SZ, Ognjanović BI, Štajn AŠ, Žikić RV, Saičić ZS, Petrović VM. Antioxidant defense system in skeletal muscle of rats treated with cadmium. A possible protective role of coenzyme Q10. *Jugoslav Med Biohem* 2001; 20: 229–35.
36. Hussain T, Shukla GS, Chandra SV. Effects of cadmium on superoxide dismutase and lipid peroxidation in liver and kidney of growing rats: in vivo and in vitro studies. *Pharmacol Toxicol* 1987; 60 (5): 355–8.
37. Shukla GS, Hussain T, Chandra SV. Possible role of regional superoxide dismutase activity and lipid peroxide levels in cadmium neurotoxicity: in vivo and in vitro studies in growing rats. *Life Sci* 1987; 41 (19): 2215–21.
38. Patra RC, Swarup D, Senapati SK. Effects of cadmium on lipid peroxides and superoxide dismutase in hepatic, renal and testicular tissue of rats. *Vet Hum Toxicol* 1999; 41(2): 65–7.
39. Ognjanović BI, Žikić RV, Štajn AŠ, Saičić ZS, Kostić MM, Petrović VM. The effects of selenium on the antioxidant defense system in the liver of rats exposed to cadmium. *Physiol Res* 1995; 44: 293–300.
40. Stohs SJ, Bagchi D, Hassoun E, Bagchi M. Oxidative mechanism in the toxicity of chromium and cadmium ions. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2000; 19: 201–13.
41. Jamall IS, Naik M, Sprowls JJ, Trombetta LD. A comparison of the effects of dietary cadmium on heart and kidney antioxidant enzymes: evidence for the greater vulnerability of the heart to cadmium toxicity. *J Appl Toxicol* 1989; 9: 339–45.
42. Jamall IS, Sprowls JJ. Effects of cadmium and dietary selenium on cytoplasmic and mitochondrial antioxidant defense system in the heart of rats fed high dietary copper. *Toxicol Appl Pharmacol* 1987; 87: 102–10.
43. Nedergaard J, Alexon S, Cannon B. Cold adaptation in the rat: increased brown fat peroxisomal  $\beta$ -oxidation relative to maximal mitochondrial oxidative capacity. *Cell Physiol* 1980; 239: C208–C216.
44. Beutler E. Catalase. In: Beutler E ed. *Red Cell Metabolism, a Manual of Biochemical Methods*. New York: Grune and Stratton, 1982. pp. 105–6.

45. Štajn A, Žikić RV, Ognjanović B, Saičić ZS, Pavlović SZ, Kostić MM. Effect of cadmium and selenium on the antioxidant defense system in rat kidneys. *Comp Biochem Physiol* 1997; 117C (2): 167–72.
46. Shukla GS, Hussain T, Sirvastava RS, Chandra SV. Glutathione peroxidase and catalase in liver, kidney, testis and brain regions of rats following cadmium exposure and subsequent withdrawal. *Ind Health* 1989; 27 (2): 59–69.
47. Olsson U. Selenium deficiency and detoxication functions in the rat: short-term effects of cadmium. *Drug Nutr Instruc* 1986; 4: 309–19.
48. Beutler TM, Eatan DL. Glutathione-S-transferases: amino acid sequence comparison classification and phylogenetic relationship. *Environ Carcino Ecotox Revs* 1992; C10: 181–203.
49. Chatterjee GC, Banerjee SK, Pal RD. Cadmium administration and L-ascorbic acid and metabolism in rats. Effects of L-ascorbic acid supplementation. *Int J Vitam Nutr Res* 1973; 43: 370–7.
50. Shiraishi GS, Uno H, Waalkes MP. Effects of L-ascorbic acid pretreatment on cadmium toxicity in the male Fisher (F344/NCr) rat. *Toxicol* 1993; 85: 85–100.
51. Nagyova A, Galbavy S, Ginter E. Histopathological evidence of vitamin C protection against Cd-nephrotoxicity in guinea pigs. *Exp Toxicol Pathol* 1994; 46: 11–4.
52. Hudecova A, Ginter E. The influence of ascorbic acid on lipid peroxidation in guinea pigs intoxicated with cadmium. *Food Chem Toxicol* 1992; 30: 1011–1113.
53. Evans P, Halliwell B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *Br J Nutr* 2001; 85: S67–S74.
54. Halliwell B. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo? *Free Rad Res* 1996; 25: 439–54.
55. Beyer RE. The role of ascorbate in antioxidant protection of biomolecules: interaction with vitamin E and coenzyme Q. *J Bioenerg Biomemb* 1994; 26: 349–58.
56. Pascol A, Fariss MW, Olafsottir K, Reed DJ. A role of vitamin E in protection against cell injury: maintenance of intracellular glutathione precursors and biosynthesis. *J Biochem* 1987; 166: 241–7.
57. Fariss MW. Cadmium toxicity: Unique cytoprotective properties of alpha tococopheryl succinate in hepatocytes. *Toxicology* 1991; 69: 63–77.
58. Sugiyama M. The role of cellular antioxidants in metal-induced damage. *Cell Biol Toxicol* 1994; 10: 1–22.
59. Tandon SK, Singh S, Dhawan M. Preventive effect of vitamin E in cadmium intoxication. *Biomed Environ Sci* 1992; 5: 39–45.
60. Warren S, Patel S, Kapron CM. The effect of vitamin E exposure on cadmium toxicity in mouse embryo cells in vitro. *Toxicology* 2000; 142: 119–26.
61. Mattie MD, Freedman JH. Protective effects of aspirin and vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol) against copper- and cadmium-induced toxicity. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 285: 921–5.
62. Chow CK. Vitamin E and oxidative stress. *Free Rad Biol Med* 1991; 11: 215–32.
63. Burton GW, Joyce A, Ingold KU. First proof that vitamin E is the major lipid-soluble, chain-breaking antioxidant in human plasma. *Lancet* 1992; 2: 327.
64. Packer L, Kagan V, Serbinova E. Participation of ubiquinones in membrane antioxidant: direct radical scavenging or tocopherol recycling? In: Folkers K, Littaru GP, Yamagami T, editors. *Biomedical and clinical aspects of coenzyme Q*. Amsterdam, Elsevier Science, 1991.
65. Ernster L, Beyer RE. Antioxidant functions of Coenzyme Q: Some biochemical and pathophysiological implications. In: *Biomedical and Clinical aspects of Coenzyme Q*, eds. (Folker K, Littarru, Yamagami T), Elsevier Science Publishers, Amsterdam. 1991 pp. 45–58.
66. Ernster L, Fosmark-Andree P. Ubiquinol: an endogenous antioxidant in aerobic organisms. *Clin Investig* 1993; 71: S60–S65.
67. Niki E. Mechanisms and dynamics of antioxidant action of ubiquinol. *Mol Aspects Med* 1997; 18: S63–S70.
68. Gomez-Diaz C, Rodriguez-Aguilera JC, Barroso MP, Villalba JM, Navarro F, Navas P. Antioxidant ascorbate is stabilized by NADH-coenzyme Q<sub>10</sub> reductase in the plasma membrane. *J Bioenerg Biomembr* 1997; 29: 251–7.
69. Pavlović SZ, Ognjanović BI, Štajn AŠ, Žikić VR, Saičić SS, Petrović VM. The effect of cadmium on ascorbic acid, vitamin E and coenzyme Q concentrations in rat kidneys: a possible protective role of coenzyme Q<sub>10</sub>. *Arch Biol Sci* 2001; 53 (1–2), 3P–4P.
70. Pavlović SZ. The influence of coenzyme Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) on the antioxidant defense system in some tissues of rats chronically exposed to cadmium (thesis). University of Kragujevac; 1999.
71. Pavlović ZS, Ognjanović IB, Štajn ŠA, Žikić VR, Saičić SS, Petrović MV. The effects of cadmium and coenzyme Q<sub>10</sub> on antioxidant defence enzyme activities in the blood of rats. *Current Top Biophys* 2000; 24 (2): 159–65.
72. Pavlović ZS, Ognjanović IB, Štajn ŠA, Žikić VR, Saičić SS, Petrović MV. The Effect of Coenzyme Q<sub>10</sub> on Blood Ascorbic Acid, Vitamin E, and Lipid Peroxide in Chronic Cadmium Intoxication. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2001; 20 (2): 133–40.
73. Beyer RE. An analysis of the role of Coenzyme Q in free radical generation and as antioxidant. *Biochem Cell Biol* 1991; 70: 390–403.
74. Carr A, Frei B. Does ascorbic acid act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J* 1999; 13: 1007–24.



75. Buettner GR, Jurkiewicz BA. Catalytic metals, ascorbate and free radicals. Combination to avoid. *Rad Res* 1996; 145: 532–41.
76. Anderson ME. Glutathione and glutathione delivery compounds. *Adv Pharmacol* 1997; 38: 65–78.
77. Rahman Q, Abidi P, Afeg F, Schiffmann D, Mossman BT, Kamp DW et al. Glutathione redox system in oxidative lung injury. *Crit Rev Toxicol* 1999; 29: 543–68.
78. Meister A. Metabolism and function of glutathione. In: Dolphin D, Poulson R, Avramovic O, eds., *Glutathione. Chemical, biochemical, and medical aspects, Part A*. New York: John Wiley & Sons, Inc.; 1989; 367–474.
79. Singhal RK, Anderson ME, Meister A. Glutathione, a first line of defense against cadmium toxicity. *FASEB J* 1987; 1: 220–3.
80. Kang YJ. Exogenous glutathione decreases cellular cadmium uptake and toxicity. *Drug Metab Disp* 1992; 20: 714–8.
81. Kang YJ, Enger MD. Glutathione is involved in the early cadmium cytotoxic response in human lung carcinoma cells. *Toxicology* 1988; 48: 93–101.
82. Kang YJ, Enger MD. Effect of cellular glutathione depletion on cadmium-induced cytotoxicity in human lung carcinoma cells. *Cell Biol Toxicol* 1987; 3 (4): 347–60.
83. Ochi T, Takahashi K, Ohsawa M. Indirect evidence for the induction of a prooxidant state by cadmium chloride in cultured mammalian cells and a possible mechanism for the induction. *Mutat Res* 1987; 180: 257–66.
84. Asokan P. Effect of partial hepatectomy on hepatic metallothionein and glutathione levels and cadmium distribution in different tissues. *Toxicol Lett* 1982; 12 (1): 35–40.
85. Hatcher EL, Chen IN, Kang YJ. Cadmium resistance in A549 cells correlates with elevated glutathione content but non antioxidant enzymatic activities. *Free Rad Biol Med* 1995; 19 (6): 805–12.
86. Seagrave J, Hildebrand CE, Enger MD. Effects of cadmium on glutathione metabolism in cadmium sensitive and cadmium resistant Chinese hamster cell lines. *Toxicol* 1993; 29 (1–2): 101–7.
87. Li W, Zhao Y, Chou IN. Alterations in cytoskeletal protein sulfhydryls and cellular glutathione in cultured cells exposed to cadmium and nickel ions. *Toxicology* 1993; 77 (1–2): 65–79.
88. Chin TA, Templeton DM. Protective elevations of glutathione and metallothionein in cadmium-exposed mesangial cells. *Toxicology* 1993; 77: 145–56.
89. Gaubin Y, Vaissade F, Croute F, Beau B, Soleilhavoup JP, Murat JC. Implication of free radicals and glutathione in the mechanism of cadmium-induced expression of stress proteins in the A549 human lung cell-line. *Biochimica et Biophysica Acta* 2000; 1495: 4–13.
90. Ochi T, Otsuka F, Takahashi K, Oshawa M. Glutathione and metallothioneins as cellular defense against cadmium toxicity in cultured Chinese hamster cells. *Chem Biol Interact* 1988; 65: 1–14.
91. Nigam D, Shukla GS, Agarwal AK. Glutathione depletion and oxidative damage in mitochondria following exposure to cadmium in rat liver and kidney. *Toxicol Lett* 1999; 106: 151–7.
92. Karmakar R, Roy S, Chatterjee M. The effects of cadmium on the hepatic and renal levels of reduced glutathione, the activity of glutathione S-transferase and gamma glutamyl transpeptidase. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1999; 18: 29–35.
93. Jamall IS. Differential effects of cadmium on cytosolic and mitochondrial glutathione levels in the rat heart. *FEBS Lett* 1987; 214: 62–4.
94. Rana SV, Boora PR. Antiperoxidative mechanisms offered by selenium against liver injury caused by cadmium and mercury in rat. *Bull Environ Contam Toxicol* 1992; 48: 120–4.
95. Rana SV, Verma S. Protective effects of GSH, vitamin E, and selenium on lipid peroxidation in cadmium-fed rats. *Biol Trace Elem Res* 1996; 51: 161–8.
96. Kamiyama T, Miyakawa H, Li JP et al. Effects of one-year cadmium exposure on livers and kidneys and their relation to glutathione levels. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1995; 88: 177–86.
97. Webb M. The metallothioneins. In: Webb M (ed). *The Chemistry, Biochemistry and Biology of Cadmium*. Amsterdam: Elsevier/North Holland, Biomedical Press; 1979: 195–266.
98. Sawada J, Kikuchi Y, Shibutani M, Mitsumori K, Inoue K, Kasahara T. Induction of metallothionein in astrocytes by cytokines and heavy metals. *Biol Signals* 1994; 3 (3): 157–68.
99. Bauman JW, Liu J, Klaassen CD. Production of metallothionein and heat shock protein in response to metals. *Fundam Appl Toxicol* 1993; 21 (1): 15–22.
100. Templeton D, Cherian G. Toxicological significance of metallothionein. *Methods Enzymol* 1991; 205: 11–24.
101. Deneke SM. Thiol-based antioxidants. *Curr Top Cell Reg* 2000; 36: 151–80.
102. Merker MP, Pitt BR, Choi AM, Hassoun PM, Dawson CA, Fisher AB. Lung redox homeostasis: emerging concepts. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279: L413–L417.
103. Iszard MB, Liu J, Klaassen CD. Effect of several metallothionein inducers on oxidative stress defense mechanisms in rats. *Toxicology* 1995; 104: 25–33.
104. Viljoen JA, Tappel LA. Interactions of selenium and cadmium with metallothionein-like and other cytosolic

- proteins of rat kidney and liver. *J Inorg Biochem* 1988; 34: 277–90.
105. Thornalley PJ, Vasak M. Possible role for metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress, kinetics and mechanisms of its reaction with superoxide and hydrogen radicals. *BBA* 1985; 827: 36–44.
106. Miles AT, Hawksworth GM, Beattie JH, Rodilla V. Induction, regulation, degradation, and biological significance of mammalian metallothioneins. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2000; 35: 35–70.
107. Janssen YMW, Borm PJA, Van Houten B, Mossman BT. Cell and tissue responses to oxidative damage. *Lab Invest* 1993; 69: 261–74.
108. Timblin CR, Janssen YMW, Mossman BT. Free radical mediated alterations of gene expression by xenobiotics. In: *Free Radical Toxicology* ed. Wallace, Taylor & Francis 1997. 16: 325–48.
109. 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. *Magnesium Research* 1998; 11 (4): 283–8.
110. Soldatović D, Matović V, Vujanović D, Gujet-Bara A, Bara M, Durlach J. Metal pollutants and bioelements: retrospective of interactions between magnesium and toxic metals. *Magnesium Research* 2002; 15 (1–2): 67–72.

*Rad primljen: 9. 10. 2003*

*Prihvaćen za štampu: 17. 12. 2003*