

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



025000199840





502.....2015

337^A

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ - ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΜΟΝΑΔΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΑΓΓΕΛΟΣ Μ. ΕΥΑΓΓΕΛΟΥ, ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

**ΒΙΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΩΣ ΠΟΣΙΜΟΥ ΝΕΡΟΥ
ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ ΕΚΡΟΗΣ Β'ΒΑΘΜΙΟΥ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ
ΣΕ ΕΠΙΜΥΕΣ,
ΜΕ ΕΜΦΑΣΗ ΣΤΙΣ ΕΠΔΡΑΣΕΙΣ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ**

DU

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΗΣ Α. ΠΑΠΑΓΙΑΝΝΗΣ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΛΟΓΟΣ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2000



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ - ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΑΓΓΕΛΟΣ Μ. ΕΥΑΓΓΕΛΟΥ, ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΜΟΝΑΔΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΥΠΕΥΘΥΝΗ: ΒΑΣΙΛΙΚΗ ΚΑΛΦΑΚΑΚΟΥ, ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

**ΒΙΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΩΣ ΠΟΣΙΜΟΥ
ΝΕΡΟΥ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ ΕΚΡΟΗΣ Β'ΒΑΘΜΙΟΥ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ
ΣΕ ΕΠΙΜΥΕΣ,
ΜΕ ΕΜΦΑΣΗ ΣΤΙΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΗΣ Λ. ΠΑΠΑΓΙΑΝΝΗΣ

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΛΟΓΟΣ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2000



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ ΚΑΙ ΕΚΔΟΣΕΩΝ ΔΙΔΑΚΤΙΚΩΝ ΒΙΒΛΙΩΝ (ΙΤΥΣΣΕ)

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή, δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα.
(Νόμος 5343/32, άρθρο 202, παράγρ. 2)



Η ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Β. Καλφακάκου (Επιβλέπουσα)
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φυσιολογίας
Ιατρική Σχολή – Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Α. Ευαγγέλλου (Μέλος)
Αναπληρωτής Καθηγητής Φυσιολογίας
Ιατρική Σχολή – Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Β. Μάϊπα (Μέλος)
Επίκουρη Καθηγήτρια Υγιεινής
Ιατρική Σχολή – Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων



Η ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Ν. Αγνάντη

Καθηγητής Παθολογικής Ανατομίας
Ιατρική Σχολή – Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Β. Κατσογιαννόπουλος

Καθηγητής Υγιεινής
Ιατρική Σχολή – Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Φ. Πομώνης

Καθηγητής Βιομηχανικής Χημείας
Τμήμα Χημείας – Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Β. Καλφακάκου

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φυσιολογίας
Ιατρική Σχολή – Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Α. Ευαγγέλλου

Αναπληρωτής Καθηγητής Φυσιολογίας
Ιατρική Σχολή – Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Μ. Αγγελίδης

Αναπληρωτής Καθηγητής Περιβαλλοντικής Χημείας
Τμήμα Περιβάλλοντος – Πανεπιστήμιο Αιγαίου

Β. Μάϊπα

Επίκουρη Καθηγήτρια Υγιεινής
Ιατρική Σχολή – Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων





ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ - ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ - ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΔΙΤΕΛΟΣ ΕΥΑΓΓΕΛΟΥ
ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

**ΣΥΝΕΔΡΙΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ
ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ
του κ.Ιωάννη Παπαγιάννη, ιπτυχιούχο Περιβαλλοντολόγου**

Συνεδρίασε σήμερα 6/3/2000 και ώρα 1 μ.μ στο Εργαστήριο Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, η Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή, της διδακτορικής διατριβής του Ιωάννη Παπαγιάννη, με τίτλο:

ΒΙΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΩΣ ΠΟΣΙΜΟΥ ΝΕΡΟΥ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ ΕΚΡΟΙΣ Β' ΒΛΘΜΟΥ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ, ΣΕ ΕΠΙΜΥΕΣ, ΜΕ ΕΜΦΑΣΗ ΣΤΙΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ"

Στην Συνεδρίαση ήταν παρόντες οι κ.κ.:

1. Νίκη Αγνάντη, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας, Ιατρικού Τμήματος Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
2. Φίλιπ. Πομώνης, Καθηγητής Βιομηχανικής Χημείας, Χημικού Τμήματος Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
3. Μιχ. Αγγελίδης, Αν. Καθηγητής Περιβαλλοντικής Χημείας, Τμήματος Περιβάλλοντος, Παν/μίου Αιγαίου
4. Αγγ. Ευαγγέλου, Αναπληρωτής Καθηγητής Φυσιολογίας, Ιατρικού Τμήματος, Παν/μίου Ιωαννίνων
5. Βασ. Καλφακάκου, Αν. Καθηγήτρια Φυσιολογίας, Ιατρικού Τμήματος Παν/μίου Ιωαννίνων, επιβλέπουσα.

Απουσίαζε ο Βασ. Κατσουγιαννόπουλος, Καθηγητής Υγιεινής, Ιατρικής Σχολής του Αριστοτελείου Παν/μίου Θεσσαλονίκης και η κ.Βασιλική Μάιττα Επίκ.Καθηγήτρια Υγιεινής του Ιατρικού Τμήματος του Παν/μίου Ιωαννίνων, λόγω υποχρεώσεων.




Ο κ. Παπαγιάννης παρουσίασε την διδακτορική του διατριβή , αναλύοντας τα δεδομένα της μελέτης και τα συμπεράσματα της διδακτορικής διατριβής.

Εν συνέχεια υποβάλλονται ερωτήσεις από την Εξεταστική Επιτροπή.

Αποχωρεί ο υποψήφιος και η Επιτροπή σύμφωνα με τον νόμο, κρίνει την πρωτοτυπία και την συμβολή της διατριβής στην επιστήμη, ως και την επίδοση του υποψηφίου.

Η Επιτροπή αφού συζήτησε και εξέτασε τα δεδομένα αποδέχεται την διδακτορική διατριβή ομόφωνα και απονέμει τον τίτλο του διδάκτορα του Ιατρικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, στον κ. Ιωάννη Παπαγιάννη με τον βαθμό "ΑΡΙΣΤΑ".

Η ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ


Νίκη Αγνάντη, Καθηγήτριας Παθολογικής Ανατομίας, Ιατρικού Τμήματος
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων


Φίλιππος Πομώνης, Καθηγητής Βιομηχανικής Χημείας, Χημικού Τμήματος
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων


Μιχάλης Αγγελίδης, Αν. Καθηγητής Περιβαλλοντικής Χημείας, Τμήματος
Περιβάλλοντος, Πανεπιστημίου Αιγαίου


Αγγέλος Ευσεβίου, Αναπληρωτής Καθηγητής Φυσιολογίας, Ιατρικού
Τμήματος, Πανεπιστημίου Ιωαννίνων


Βασιλική Καλφακάκου, Αν. Καθηγήτρια Φυσιολογίας, Ιατρικού Τμήματος
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων



0. The following is a list of the names of the persons who have been appointed to the various committees of the Board of Directors of the Corporation.

By unanimous vote of the Board of Directors, the following persons have been appointed to the various committees of the Board of Directors of the Corporation.

At a meeting of the Board of Directors held on the 15th day of January, 1950, the following persons were appointed to the various committees of the Board of Directors of the Corporation.

The following persons have been appointed to the various committees of the Board of Directors of the Corporation.

THE BOARD OF DIRECTORS

W. A. Anderson, Chairman
J. B. Brown, Vice Chairman
C. D. Green, Secretary

W. A. Anderson, Chairman
J. B. Brown, Vice Chairman
C. D. Green, Secretary

W. A. Anderson, Chairman
J. B. Brown, Vice Chairman
C. D. Green, Secretary

W. A. Anderson, Chairman
J. B. Brown, Vice Chairman
C. D. Green, Secretary

W. A. Anderson, Chairman
J. B. Brown, Vice Chairman
C. D. Green, Secretary



στη μνήμη του πατέρα μου



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ο ρόλος των μετάλλων στα ζώα και τον άνθρωπο εμφανίζεται διπλός. Τα μέταλλα δυνατόν να αποτελούν απαραίτητα ιχνοστοιχεία για τη ζωή, την ανάπτυξη και την υγεία αλλά συγχρόνως και τοξικούς παράγοντες για τις δομικές και συστημικές λειτουργίες των οργανισμών.

- Η χρόνια έκθεση σε μέταλλα υποβάλλει τους οργανισμούς σε stress και κινητοποιεί μηχανισμούς προσαρμογής. Η εκτίμηση του stress από μέταλλα απαιτεί πολυπαραγοντική ανάλυση των οργανοσυστημικών δράσεων των μετάλλων και οι πειραματικές συνθήκες όπως και ο χρόνος έκθεσης απαιτούν την καλύτερη δυνατή προσομοίωση.

Χρόνια έκθεση και βιοσυσώρευση των μετάλλων δυνατόν να προκύψει από τη χορήγηση επεξεργασμένου λύματος εργοστασίου βιολογικού καθαρισμού, για ύδρευση, πρακτική που αποτελεί γεγονός σε πολλές ευρωπαϊκές περιοχές δεδομένης της έλλειψης φυσικού πόσιμου νερού.

Τα πειραματικά πρωτόκολλα που μέχρι σήμερα έχουν εφαρμοσθεί για τη μελέτη των επιπτώσεων των μετάλλων αφορούν καλλιέργειες κυττάρων ή χορήγηση νερού, σε ζώα, με διάφορες συγκεντρώσεις μετάλλων για διάστημα όχι μεγαλύτερο των 3-4 εβδομάδων και προσδιορισμό είτε των συγκεντρώσεων των μετάλλων είτε ορισμένων ανοσοκυτταρικών ή ενζυμικών δεικτών.

Στην παρούσα διατριβή τα ζώα εκτέθηκαν υπό διάφορες συνθήκες σε επεξεργασμένο αστικό λύμα υπό τη μορφή του πόσιμου νερού για 30 μήνες.

Σ' αυτό το διάστημα τα ζώα παρακολούθηθηκαν συνεχώς για τις οργανοσυστημικές επιδράσεις τεσσάρων (4) μετάλλων, δύο απαραίτητων (Cu, Zn) και δύο μη απαραίτητων (Pb, Cd) κατόπιν εφαρμογής ενός πλήρους φυσιοπαθολογικού πρωτοκόλλου που αφορούσε λειτουργικούς και ιστοπαθολογικούς δείκτες για δέκα (10) όργανα και ιστούς συμπεριλαμβανομένου φυσικά και του προσδιορισμού των συγκεντρώσεων των μετάλλων.

Η ολοκλήρωση της διατριβής κατέληξε σε μια πλούσια βάση πολύτιμων δεδομένων για την φυσιολογία στο περιβαλλοντικό stress από μέταλλα, σε ένα μοντέλο πραγματικών συνθηκών έκθεσης.

Τέλος προέκυψαν συνολικότερες εκτιμήσεις των επιπτώσεων αλλά και των δυνατοτήτων διαχείρισης του λύματος που προκύπτει από τα εργοστάσια βιολογικών καθαρισμών.

Η παρούσα έρευνα πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Πειραματικής Φυσιολογίας του Ιατρικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κατά το διάστημα 1995 - 1999.

Θέλω να εκφράσω τις ευχαριστίες και την ευγνωμοσύνη μου προς την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φυσιολογίας κα. Β. Καλφακάκου, η οποία με φιλοξένησε στο Εργαστήριο Φυσιολογίας και μου ανάθεσε αυτή τη μελέτη. Η εμπιστοσύνη που μου έδειξε σε συνδυασμό με την ακούραστη συμπαράστασή της, τόσο σε επιστημονικό όσο και σε προσωπικό επίπεδο, με βοήθησε να φέρω σε πέρας αυτή την εργασία.

Ευχαριστώ θερμά τον Αναπληρωτή Καθηγητή Φυσιολογίας κ. Α. Ευαγγέλου, μέλος της συμβουλευτικής επιτροπής, για την πολύτιμη προσφορά ιδεών, την εποικοδομητική κριτική και τη σωστή καθοδήγησή του για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων καθώς και για την επιστημονική και ανθρώπινη υποστήριξή του όλο αυτό το διάστημα.



Επίσης ευχαριστώ την Επίκουρη Καθηγήτρια Υγιεινής κα. Β. Μάϊπα, μέλος της συμβουλευτικής επιτροπής για τις χρήσιμες υποδείξεις της κατά τη διάρκεια αυτής της μελέτης.

Θέλω να ευχαριστήσω τους καθηγητές: κ. Ν. Αγνάντη, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας, Β. Κατσουγιαννόπουλο, Καθηγητή Υγιεινής και Φ. Πομώνη Καθηγητή Βιομηχανικής Χημείας που δέχτηκαν να είναι μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής.

Ιδιαίτερα θέλω να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή Περιβαλλοντικής Χημείας κ. Μ. Αγγελίδη, μέλος της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής για την εμπιστοσύνη και τη βοήθεια που μου έδωσε για να ξεκινήσω αυτή την εργασία.

Σημαντικότερη υπήρξε η συμβολή και η βοήθεια του Αναπληρωτή Καθηγητή Παθολογικής Ανατομίας κ. Δ. Στεφάνου, τον οποίο ευχαριστώ ιδιαίτερα, για την εξέταση και καταγραφή των παθολογοανατομικών ευρημάτων, καθώς και για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

Ευχαριστώ την Επίκουρη Καθηγήτρια Φυσιολογίας κα. Π. Βεζυράκη για τη βοήθειά της στον χειρισμό των πειραματοζώων, την ηθική υποστήριξη και τις εύστοχες υποδείξεις της για τη συγγραφή της εργασίας.

Το Λέκτορα Φυσιολογίας κ. Σ. Καρκαμπούνα για την ηθική και φιλική του συμπαράσταση και για τη βοήθειά του στη συγγραφή εξειδικευμένων τεχνικών θεμάτων.

Επίσης θέλω να ευχαριστήσω:

- τον κ. Γ. Τσιμαράκη, πρ. Εργοστασίου Βιολογικού Καθαρισμού, για τη βοήθειά του και την παροχή δεδομένων που αφορούν την ποιότητα των λυμάτων.
- την Επίκουρη Καθηγήτρια Βιοχημείας κα. Ε. Μπαϊρακτάρη, για τη βοήθειά της στη μέτρηση των βιοχημικών παραμέτρων του αίματος.
- τον Δρ. Ε. Χονδρέλλη, για τη βοήθειά του στη μέτρηση των αιματολογικών παραμέτρων.
- τον Δρ. Γ. Καλπούζο και τον υπ. διδάκτορα Ρ. Λιασκό, για τη βοήθειά τους στο χειρισμό των πειραματοζώων και στον τρόπο λήψης καρδιογραφημάτων, αίματος και ιστών.
- τους κ.κ. Ν. Γκάλγκο, Π. Γρίβα και την κα. Ε. Γούλα, ΕΔΤΠ του Εργαστηρίου Φυσιολογίας, για την εξαιρετική τεχνική και γραμματειακή υποστήριξη που μου προσέφεραν.
- τον κ. Α. Βέρρο για τη βοήθειά του στην εξασφάλιση των πειραματοζώων και τη σωστή διαβίωση τους.

Τέλος θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου στην υπ. διδάκτορα Μάνθα Σωτηροπούλου για τη πολύτιμη βοήθεια και συμπαράσταση της κατά τη συγγραφή της εργασίας.

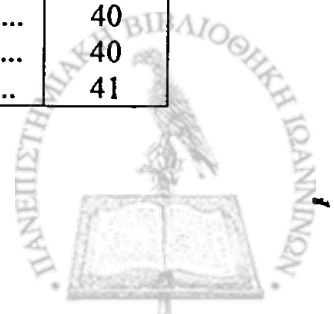


ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

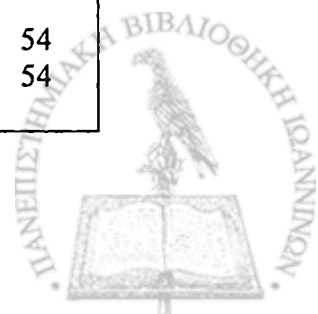
| | Σελ. |
|---|-----------|
| ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ..... | i-v |
| ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ..... | vi |
| 1. ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ..... | 1 |
| 1.1 Γενικά περί της σημασίας των ιχνοστοιχείων..... | 1 |
| 1.1.1. Οδοί εισόδου μετάλλων στον οργανισμό..... | 1 |
| 1.1.1.α Απορρόφηση μετάλλων από την αναπνευστική οδό..... | 2 |
| 1.1.1.β Πέψη και γαστρεντερική απορρόφηση..... | 3 |
| 1.1.1.γ Απορρόφηση βαρέων μετάλλων από το δέρμα..... | 4 |
| 1.2 Διακίνηση των μετάλλων στα κύτταρα..... | 4 |
| 1.3 Μηχανισμοί δράσης ιχνοστοιχείων..... | 6 |
| 1.4 Ελλείψεις ιχνοστοιχείων..... | 6 |
| 1.5. Μηχανισμοί τοξικότητας μετάλλων..... | 7 |
| 1.5.1 Μηχανισμοί καρκινογένεσης μετάλλων..... | 8 |
| 1.5.2 Όργανα – στόχοι των μετάλλων..... | 10 |
| 1.6 Μηχανισμοί αποτοξίκωσης μετάλλων..... | 11 |
| 1.7 Μεταλλοθειονίνες..... | 12 |
| 2. ΤΑ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΙ Η ΒΙΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥΣ..... | 13 |
| 2.1 ΧΑΛΚΟΣ (Cu)..... | 13 |
| 2.1.1 Βιολογικός ρόλος Cu..... | 13 |
| 2.1.2 Απορρόφηση του Cu..... | 13 |
| 2.1.3 Μεταφορά Cu στο πλάσμα..... | 14 |
| 2.2 ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΣ (Zn) | 15 |
| 2.2.1 Βιολογικός ρόλος Zn..... | 15 |
| 2.2.2 Ο προστατευτικός ρόλος του Zn στο κύτταρο..... | 15 |
| 2.2.3 Πρωτεΐνες – ένζυμα του Zn | 16 |
| 2.2.4 Απορρόφηση και μεταφορά του Zn | 17 |
| 2.2.5 Μεταβολισμός και απέκκριση του Zn | 18 |
| 2.3 ΜΟΛΥΒΔΟΣ(Pb) | 18 |
| 2.3.1 Γενικά - πηγές προέλευσης Pb | 18 |
| 2.3.2 Απορρόφηση του Pb από την γαστρεντερική οδό..... | 18 |
| 2.3.3 Κατανομή του Pb στο σώμα – τοξικότητα..... | 19 |
| 2.3.4 Βιοχημική επίδραση του Pb..... | 20 |
| 2.3.5 Νευροτοξικότητα του Pb..... | 22 |
| 2.4 ΚΑΔΜΙΟ(Cd) | 23 |
| 2.4.1 Γενικά - Συγκεντρώσεις Cd στον οργανισμό..... | 23 |
| 2.4.2 Απορρόφηση του Cd..... | 23 |
| 2.4.3 Αποθήκευση – τοξικότητα του Cd..... | 24 |



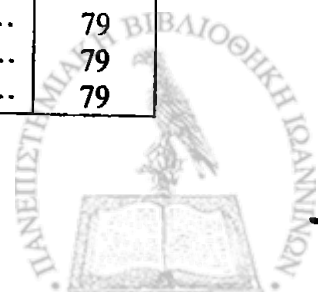
| | |
|--|-----------|
| 3. ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΟ-ΣΥΣΤΗΜΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ..... | 27 |
| 3.1 ΗΠΑΡ..... | 27 |
| 3.1.1 Cu – ήπαρ..... | 27 |
| 3.1.1.α Τοξικότητα Cu | 27 |
| 3.1.1.β Έλλειψη Cu..... | 28 |
| 3.1.2 Zn – ήπαρ..... | 29 |
| 3.1.2.α Τοξικότητα Zn..... | 29 |
| 3.1.2.β Έλλειψη Zn..... | 29 |
| 3.1.3 Pb – ήπαρ..... | 30 |
| 3.1.3.α Τοξικότητα Pb | 30 |
| 3.1.4 Cd – ήπαρ..... | 31 |
| 3.1.4.α Τοξικότητα Cd | 31 |
| 3.2 ΝΕΦΡΟΣ | 32 |
| 3.2.1 Cu – νεφρός..... | 32 |
| 3.2.1.α Τοξικότητα Cu | 32 |
| 3.2.1.β Έλλειψη του Cu..... | 32 |
| 3.2.2 Zn – νεφρός | 33 |
| 3.2.2.α Τοξικότητα Zn | 33 |
| 3.2.2.β Έλλειψη του Zn..... | 33 |
| 3.2.3 Pb – νεφρός..... | 34 |
| 3.2.3.α Τοξικότητα Pb..... | 34 |
| 3.2.4 Cd – νεφρός..... | 35 |
| 3.2.4.α Τοξικότητα Cd στον νεφρό..... | 35 |
| 3.3 ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ..... | 36 |
| 3.3.1 Cu - αιμοποιητικό σύστημα..... | 36 |
| 3.3.1.α Τοξικότητα Cu | 36 |
| 3.3.1.β Έλλειψη Cu. | 36 |
| 3.3.2 Zn - αιμοποιητικό σύστημα..... | 37 |
| 3.3.2.α Τοξικότητα Zn..... | 37 |
| 3.3.2.β Έλλειψη Zn..... | 38 |
| 3.3.3 Pb - αιμοποιητικό σύστημα..... | 39 |
| 3.3.3.α Τοξικότητα Pb..... | 39 |
| 3.3.4 Cd - αιμοποιητικό σύστημα..... | 40 |
| 3.3.4.α Τοξικότητα Cd..... | 40 |
| 3.4 ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ..... | 40 |
| 3.4.1 Cu - Καρδιαγγειακό σύστημα..... | 40 |
| 3.4.1.α Τοξικότητα Cu..... | 40 |
| 3.4.1.β Έλλειψη Cu..... | 41 |



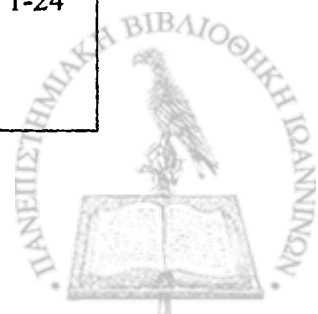
| | |
|---|----|
| 3.4.2 Zn - Καρδ/κό σύστημα..... | 42 |
| 3.4.2.α Τοξικότητα Zn..... | 42 |
| 3.4.2.β Έλλειψη Zn..... | 42 |
| 3.4.3 ^p Pb -Καρδιαγγειακό σύστημα..... | 42 |
| 3.4.3.α Τοξικότητα Pb..... | 42 |
| 3.4.4 Cd - Καρδιαγγειακό σύστημα..... | 43 |
| 3.4.4.α Τοξικότητα Cd..... | 43 |
| 3.5 ΟΥΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ..... | 44 |
| 3.5.1 Cu - Ουρογεννητικό σύστημα..... | 44 |
| 3.5.1.α Τοξικότητα Cu..... | 44 |
| 3.5.1.β Έλλειψη Cu..... | 44 |
| 3.5.2 Zn - Ουρογεννητικό σύστημα..... | 45 |
| 3.5.2.α Τοξικότητα Zn..... | 45 |
| 3.5.2.β Έλλειψη Zn..... | 45 |
| 3.5.3 Pb - Ουρογεννητικό σύστημα..... | 46 |
| 3.5.3.α Τοξικότητα Pb..... | 46 |
| 3.5.4 Cd - Ουρογεννητικό σύστημα..... | 47 |
| 3.5.4.α Τοξικότητα Cd..... | 47 |
| 3.6 ΕΓΚΕΦΑΛΟΣ..... | 48 |
| 3.6.1 Cu - εγκέφαλος..... | 48 |
| 3.6.1.α Τοξικότητα Cu..... | 48 |
| 3.6.1.β Έλλειψη Cu..... | 48 |
| 3.6.2 Zn - εγκέφαλος..... | 49 |
| 3.6.2.α Τοξικότητα Zn..... | 49 |
| 3.6.2.β Έλλειψη Zn..... | 49 |
| 3.6.3 Pb - εγκέφαλος..... | 50 |
| 3.6.3.α Τοξικότητα Pb..... | 50 |
| 3.6.4 Cd - εγκέφαλος..... | 51 |
| 3.6.4.α Τοξικότητα Cd..... | 51 |
| 3.7 ΠΝΕΥΜΟΝΕΣ..... | 52 |
| 3.7.1 Cu - πνεύμονες..... | 52 |
| 3.7.1.α Τοξικότητα Cu..... | 52 |
| 3.1.7.β Έλλειψη Cu..... | 52 |
| 3.7.2 Zn - πνεύμονες..... | 53 |
| 3.7.2.α Τοξικότητα Zn..... | 53 |
| 3.7.2.β Έλλειψη Zn..... | 53 |
| 3.7.3 Pb - πνεύμονες..... | 54 |
| 3.7.3.α Τοξικότητα Pb..... | 54 |



| | | |
|---------|---|----|
| 3.7.4 | Cd – πνεύμονες..... | 55 |
| 3.7.4.α | Τοξικότητα Cd..... | 55 |
| 3.8 | ΜΥΟΣΚΕΛΕΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ | 55 |
| 3.8.1 | Cu - μυοσκελετικό σύστημα..... | 55 |
| 3.8.1.α | Τοξικότητα Cu..... | 55 |
| 3.8.1.β | Έλλειψη Cu..... | 56 |
| 3.8.2 | Zn - μυοσκελετικό σύστημα..... | 56 |
| 3.8.2.α | Τοξικότητα Zn..... | 56 |
| 3.8.2.β | Έλλειψη Zn..... | 56 |
| 3.8.3 | Pb - μυοσκελετικό σύστημα..... | 57 |
| 3.8.3.α | Τοξικότητα Pb..... | 57 |
| 3.8.4 | Cd - μυοσκελετικό σύστημα..... | 58 |
| 3.8.4.α | Τοξικότητα Cd..... | 58 |
| 4. | ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟ – ΛΥΜΑΤΑ | 59 |
| 4.1. | Επεξεργασία αποβλήτων..... | 59 |
| 4.1.α | Πρωτοβάθμιος ή μηχανικός καθαρισμός..... | 59 |
| 4.1.β | Δευτεροβάθμια επεξεργασία με βιολογικές διεργασίες..... | 59 |
| 4.1.γ | Τριτοβάθμιος ή χημικός καθαρισμός..... | 60 |
| 4.2 | Στοιχεία περιεχόμενων βλαπτικών παραγόντων στο υγρό λύμα..... | 62 |
| 4.2.1 | Χλωρίωση – τοξικότητα του Cl..... | 63 |
| 4.2.2 | Παρουσία μετάλλων στα λύματα..... | 64 |
| 4.2.3 | Μορφές μετάλλων στα φυσικά νερά..... | 66 |
| 4.2.4 | Μορφές μετάλλων στα λύματα..... | 67 |
| 4.2.5 | Απομάκρυνση μετάλλων | 68 |
| 5. | ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ | 73 |
| 5.1 | Πειραματόζωα..... | 73 |
| 5.1.1 | Συνθήκες πειραματισμού..... | 73 |
| 5.2 | Συλλογή δειγμάτων..... | 74 |
| 5.2.1 | Χρόνος συλλογής δειγμάτων..... | 74 |
| 5.2.2 | Συλλογή ούρων..... | 74 |
| 5.2.3 | Λήψη καρδιογραφήματος..... | 74 |
| 5.2.4 | Αιμοληψία..... | 75 |
| 5.2.5 | Συλλογή ιστών..... | 75 |
| 5.3 | Προσδιορισμός αιματολογικών παραμέτρων | 75 |
| | α) Στο ολικό αίμα των ζώων..... | 75 |
| | β) Στον ορό των ζώων..... | 76 |
| 5.4 | Προσδιορισμός βαρέων μετάλλων..... | 76 |
| | α. Όργανα, μέθοδος μέτρησης..... | 76 |
| | β. Παρασκευή προτύπων διαλυμάτων..... | 76 |
| | γ. Προετοιμασία δειγμάτων υγρού λύματος και νερού ύδρευσης..... | 78 |
| | δ. Προετοιμασία δειγμάτων ορού και ούρων..... | 79 |
| | ε. Προετοιμασία δειγμάτων ιστών (όξινη πέψη)..... | 79 |
| | στ. Υπολογισμός συγκεντρώσεων των μετάλλων..... | 79 |



| | | |
|----------|--|------|
| 5.5 | Παθολογοανατομικές εξετάσεις..... | 80 |
| 6. | ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ | 81 |
| 6.1 | Φυσικοχημικές παράμετροι και επίπεδα μετάλλων στο λύμα..... | 81 |
| 6.2 | Λειτουργικές Παράμετροι | 81 |
| 6.2.1 | Βάρος των ζώων..... | 82 |
| 6.2.2 | Ρυθμός Θανάτου..... | 82 |
| 6.2.3 | Αιματολογικές παράμετροι..... | 83 |
| 6.2.4 | Βιοχημικές παράμετροι νεφρικής λειτουργίας..... | 85 |
| 6.2.5 | Απέκκριση μετάλλων στα ούρα..... | 89 |
| 6.2.6 | Βιοχημικές παράμετροι ηπατικής λειτουργίας..... | 91 |
| 6.2.7 | Βιοχημικές παράμετροι παγκρεατικής λειτουργίας..... | 94 |
| 6.3 | Ηλεκτροκαρδιογραφικά αποτελέσματα | 94 |
| 6.4 | Επίπεδα μετάλλων στα όργανα των ζώων..... | 99 |
| 6.4.1 | Σπλήνας..... | 99 |
| 6.4.2 | Ουρογεννητικό σύστημα..... | 101 |
| 6.4.2.α. | Νεφρός..... | 101 |
| 6.4.2.β | Ουροδόχος κύστη..... | 105 |
| 6.4.2.γ | Όρχεις..... | 107 |
| 6.4.3 | Ήπαρ..... | 111 |
| 6.4.4 | Καρδιά..... | 114 |
| 6.4.5 | Πνεύμονες..... | 117 |
| 6.4.6 | Εγκέφαλος..... | 121 |
| 6.4.7 | Οστά..... | 124 |
| 6.4.8 | Μύες..... | 127 |
| 6.5 | Ιστοπαθολογοανατομικά ευρήματα..... | 130 |
| 6.6 | Επίπεδα μετάλλων στους πνεύμονες, ήπαρ και νεφρά των ζώων που απεβίωσαν κατά τη διάρκεια της πειραματικής έκθεσης..... | 135 |
| 6.7 | Δείκτες συσσώρευσης (24 μηνών) για τα ιχνοστοιχεία..... | 136 |
| 6.8 | Φωτογραφίες από Παθολογοανατομικά ευρήματα..... | 139 |
| 7. | ΣΥΖΗΤΗΣΗ | 144 |
| 8. | ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ | 170 |
| 9. | ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ | 172 |
| | α) Στα ελληνικά..... | 172 |
| | β) Στα αγγλικά..... | 176 |
| 10. | ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ | 179 |
| 11. | ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ | 1-24 |



ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

ACE: αγγειοτενσίνη
ACTH : φλοιοεπινεφριδιοτρόπος ορμόνη
Al: αργίλιο
ALT: αμινοτρανσφεράση της αλανίνης (τρανσαμινάση)
AST: αμινοτρανσφεράση του ασπαρτικού (τρανσαμινάση)
BOD₅: βιοχημικά απαιτούμενο οξυγόνο (5 ημερών)
Cd: κάδμιο
CdCl₂: χλωριούχο κάδμιο
CdO: οξειδίο του καδμίου
Cl⁻ : ιόν χλωρίου
Co: κοβάλτιο
COD: χημικά απαιτούμενο οξυγόνο
Cr: χρώμιο
CuSO₄: θειϊκός χαλκός
DAO: οξειδάση της διαμίνης
δ-ALAD: αφυδατάση του δ- αμινολεβουλικού οξέος
EDTA : αιθυλενο-διαμινο-τετραοξικό οξύ
Fe: σίδηρος
GABA: γ- αμινοβουτυρικό οξύ
GSH: γλουταθειόνη
HCL: υδροχλωρικό οξύ
H+E: χρώση αιματοξυλίνης - ηωσίνης
HCO₃⁻: ιόντα ανθρακικού οξέος
Hg: υδράργυρος
H₂O₂ : υπεροξειδίο του υδρογόνου
HPLC: υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης
K: κάλιο
LDH: αφυδρογονάση του γαλακτικού
LDH: αφυδρογονάση του γαλακτικού
LEM: λευκοκυτταρικός ενδογενής μεσολαβητής
Mg: μαγνήσιο
Mn: μαγγάνιο
NH₃: αμμωνία
Ni: νικέλιο
NO₃⁻: νιτρικά ιόντα
NTA :νιτριλοτριοξεικό οξύ
PAF: παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων
Pb: μόλυβδος
PbO: οξειδίο του μολύβδου
Se: σελήνιο
SOD: δισμουτάση του υπεροξειδίου
TNF: παράγων νέκρωσης των όγκων
Υ: βανάδιο
Zn: ψευδάργυρος
ZnCl₂: χλωριούχος ψευδάργυρος



1. ΤΑ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ ΣΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

1.1 Γενικά περί της σημασίας των ιχνοστοιχείων.

Τα ιχνοστοιχεία είναι καθοριστικοί δομικοί και λειτουργικοί παράγοντες βασικών ενζυμικών συστημάτων και πρωτεϊνών που έχουν ζωτική σημασία στις βιοχημικές διεργασίες (πιν. 1).

Πιν. 1: Βιολογικός ρόλος ορισμένων συμπλόκων μετάλλων

| Είδος συμπλόκων | Na,K | Mg,Ca(Mn) | Zn,Cd(Co) | Cu,Fe,Mo(Mn) |
|------------------------|---------------------------------|--|----------------------|------------------------------|
| Βιολογικές λειτουργίες | Μεταφορά φορτίου, νευρική αγωγή | καταλυτικές αντιδράσεις, υδρόλυση, μεταφορά φωσφορικών | Υδρόλυση, ρύθμιση pH | Οξειδωαναγωγικές αντιδράσεις |

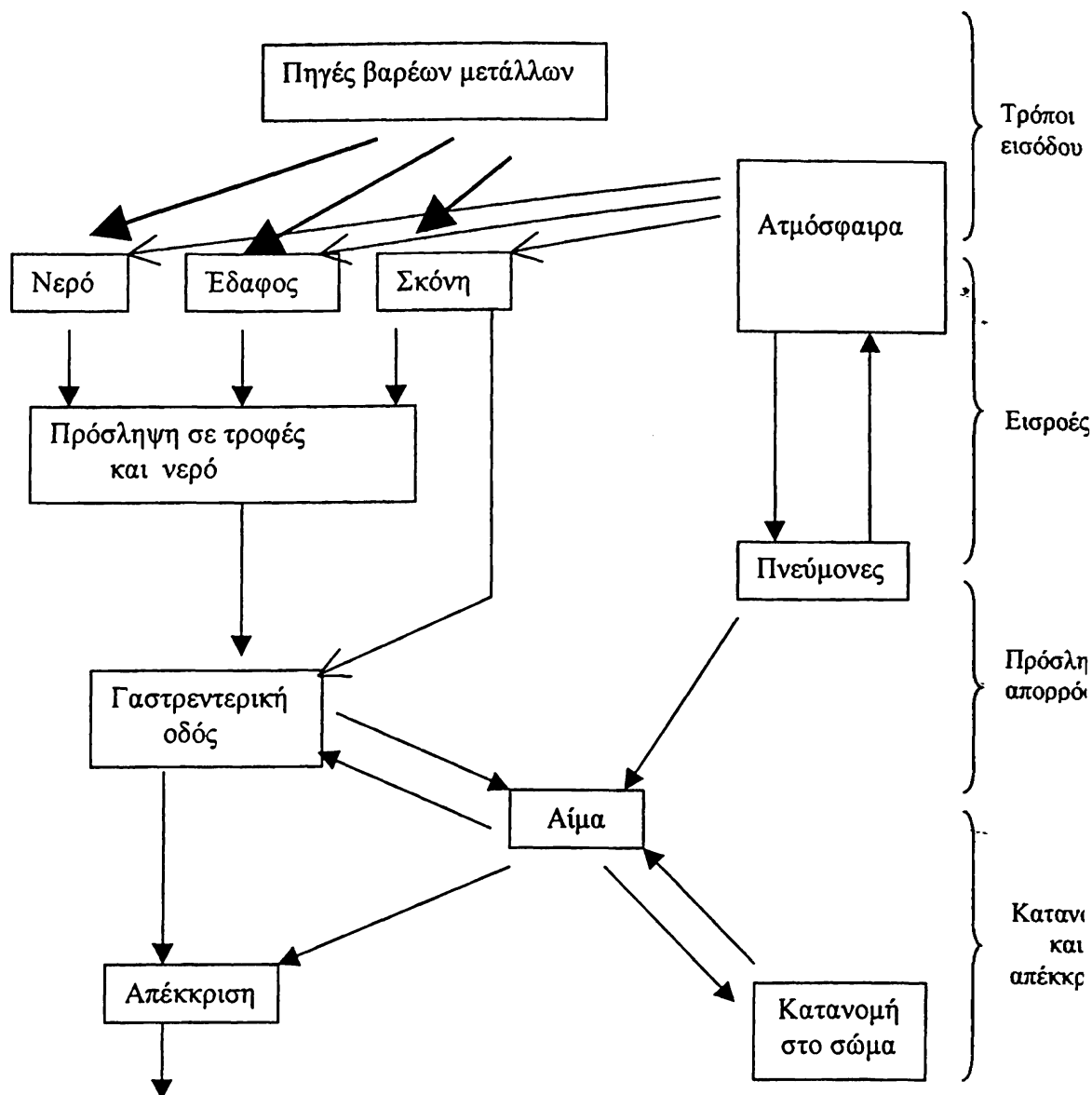
Είναι γνωστό ότι η απορρόφηση του φωτός που είναι η σημαντικότερη λειτουργία των φυτικών οργανισμών εξαρτάται από το Mg, που περιέχεται στη χλωροφύλλη, τη χρωστική των φυτών. Σημαντικές εξωκυτταρικές και ενδοκυτταρικές λειτουργίες σε όλους τους ζώντες οργανισμούς βασίζονται κυρίως στις συγκεντρώσεις K,Na,Ca, όπως εξάλλου η αιμόσταση και η συστολή των μυών εξαρτώνται από τις συγκεντρώσεις Ca. Η μεταφορά ηλεκτρονίων βασίζεται στις πρωτεΐνες του Fe, ενώ ο οξειδωτικός μεταβολισμός των ουσιών σχεδόν πάντα εξαρτάται από τους καταλύτες Fe και Cu. Μια από τις βασικότερες λειτουργίες, η μεταφορά O₂, απαιτεί πρωτεΐνες Fe και Cu, η σύλληψη αζώτου επίσης γίνεται με τη μεσολάβηση συμπλεγμάτων ομάδων που περιέχουν Fe,Mo,V. Η έλλειψη δε ορισμένων απαραίτητων ιχνοστοιχείων όπως π.χ. του Cu προκαλεί υπόχρωμη αναιμία και ουδετεροπενία (Hay R., 1987, Boronik AS. et al.,1990).

Ο Zn είναι ένα απαραίτητο ιχνοστοιχείο που μεταξύ των άλλων παίζει σπουδαίο ρόλο στην κανονική μεταγραφή του DNA. Το Co είναι το κεντρικό άτομο της βιταμίνης B₁₂ ενώ το Cr έχει δράση συμπαραγόνα για την ινσουλίνη (αυξάνει την δράση της εξωγενούς ινσουλίνης στο μεταβολισμό της γλυκόζης). Επίσης η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης περιέχει Se και ο ρόλος της είναι η προστασία του κυττάρου από τους οξειδωτικούς μηχανισμούς άμυνας όμοιους με αυτούς της βιταμίνης E, της καταλάσης και της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (Prasad AS. et al.,1985).

1.1.1 Οδοί εισόδου μετάλλων στον οργανισμό

Η είσοδος των μετάλλων στον άνθρωπο γίνεται μέσω των πνευμόνων με τη εισπνοή του αέρα, μέσω του γαστρεντερικού συστήματος με τις τροφές ή το νερό καθώς και μέσω του δέρματος.





1.1.1. α Απορρόφηση μετάλλων από την αναπνευστική οδό.

Η απορρόφηση των βαρέων μετάλλων μέσω του αναπνευστικού συστήματος εμπλέκει πολλές διεργασίες. Η πρώτη διεργασία είναι η εισπνοή αέρα που περιέχει σωματίδια βαρέων μετάλλων και η ποσότητά τους εξαρτάται από τον αναπνευστικό ρυθμό (αριθμός αναπνοών ή όγκος εισπνεόμενου αέρα στη μονάδα του χρόνου) (Fergusson JE., 1990).

Η δεύτερη διεργασία αφορά την ποσότητα των σωματιδίων που αποθηκεύονται στους πνεύμονες. Αυτή εξαρτάται από το μέγεθος των σωματιδίων, το σχήμα και το φορτίο (μόνιμο ή ηλεκτροστατικό). Μερικά σωματίδια διαπερνούν εύκολα το αναπνευστικό σύστημα ενώ άλλα αποθηκεύονται πολύ κοντά στο σημείο εισόδου. Η ποσότητα των βαρέων μετάλλων που απορροφάται διαμέσου του αναπνευστικού συστήματος δίνεται από την εξίσωση:

$$A_a = A_i + f_d + f_a$$

όπου A_a είναι η ποσότητα που απορροφάται, A_i είναι η ποσότητα που εισπνέεται, f_d το κλάσμα που αποθηκεύεται στους πνεύμονες και f_a το κλάσμα του αποθηκευμένου υλικού που απορροφάται από το αίμα. Για ένα συγκεκριμένο μέταλλο η τιμή του A_i είναι το πηλίκο της συγκέντρωσης του μετάλλου στον αέρα προς τα χαρακτηριστικά της

αναπνοής του ατόμου. Το κλάσμα f_1 εξαρτάται από την κατανομή του μετάλλου στα διάφορα μεγέθη σωματιδίων και το f_2 είναι το πηλίκο της κατανομής ιχνοστοιχείων προς τη διαλυτότητα των σωματιδίων του.

Εκτός από τον υδράργυρο φαίνεται ότι το κλάσμα των μετάλλων που αποθηκεύονται είναι μεταξύ 0.4 - 0.5 ενώ το κλάσμα των μετάλλων που προσροφούνται εξαρτάται από τη διαλυτότητα των μεταλλικών σωματιδίων και είναι περίπου 0.6 - 1.0 (Fergusson JE., 1990).

1.1.1.β Πέψη και γαστρεντερική απορρόφηση

Η τροφή πέπτεται στο στομάχι με τα υδρολυτικά ένζυμα και παράγονται μικρά μόρια που είναι απορροφήσιμα. Το pH του στομάχου είναι 1-3 εξαιτίας της παρουσίας HCl και έτσι τα βαρέα μέταλλα μπορούν να έχουν κατιονική ή ανιονική χημική μορφή (χλωρο-σύμπλοκα ανιόντα). Το υλικό που έχει πεφθεί περνά στο δωδεκαδάκτυλο και στο λεπτό έντερο όπου το pH είναι 6-7 και έτσι ένα μεγάλο μέρος της απορρόφησης λαμβάνει χώρα τόσο στο δωδεκαδάκτυλο όσο στον ειλέο και τη νήστιδα (Wergman MJ. et al., 1992, Henkin RI, 1976).

Ο χρόνος που απαιτείται για την πέψη και ο ρυθμός μεταφοράς των ουσιών στο έντερο επηρεάζονται από την ταχύτητα μετατροπής των ανιόντων ή κατιόντων σε διαφορετικά pH. Η ποσότητα και το είδος του φαγητού που καταναλώνεται επηρεάζει επίσης την απορρόφηση των μετάλλων ενώ σημαντικές είναι και οι μικροβιακές παρεμβολές καθώς και η παρουσία οργανικών χηλοποιητικών ουσιών καθώς και άλλων μετάλλων που ανταγωνίζονται τις θέσεις απορρόφησης (πιν. 2).

Τα υλικά μέσω της γαστρεντερικής οδού εισέρχονται στο αίμα. Η μεταφορά μπορεί να γίνεται παθητικά, με διάχυση και ώσμωση. Μεταφορά μπορεί να συμβαίνει και από το αίμα στο έντερο και χαρακτηρίζεται ως ενδογενής απέκκριση. Υπάρχουν πολλοί παράγοντες που επηρεάζουν την ποσότητα του μετάλλου που απορροφάται, όπως η χημεία του μετάλλου, ιδιαίτερα η μορφή του μετάλλου κατά την απορρόφηση καθώς και η διαλυτότητα των χημικών μορφών. Η διαλυτότητα ελέγχεται από το pH στο τμήμα που γίνεται η απορρόφηση (Fergusson JE., 1990).



Πιν. 2: Παράγοντας απορρόφησης (%) για τα βαρέα μέταλλα από την γαστρεντερική οδό στο αίμα.

| Στοιχείο | παράγοντας απορρόφησης (%) | Συνθήκες/σχόλια |
|-------------|----------------------------|---|
| Cd | 3-8 | Επηρεάζεται από τις περιεχόμενες πρωτεΐνες του Ca^{+2} και Zn^{+2} και από τη διαλυτότητα των ενώσεων Cd. |
| Hg ανόργανο | 8-20 | Κυρίως ο Hg^{+2} . Ο Hg^{+} απορροφάται ελάχιστα λόγω της μικρής διαλυτότητάς του. |
| Hg οργανικό | ~ 100 | Σχεδόν πλήρης απορρόφηση επειδή είναι λιποδιαλυτό. |
| Tl | ~ 100 | Ταχεία και πλήρης απορρόφηση για τα διαλυτά μέρη. |
| Pb ενήλικες | 7-10 | Εξαρτάται από τη διαίτα |
| Pb βρέφη | 25-53 | Εξαρτάται από τη διαίτα |
| As | ~ 100 | Μεγάλη απορρόφηση για ανιονικές και διαλυτές μορφές, μικρή για αδιάλυτα μέρη. |
| Sb | 3-80 | Μεγάλη απορρόφηση για ανιονικές και διαλυτές μορφές, μικρή για αδιάλυτα μέρη. |
| Bi | 1-8 | Οι διαλυτές ενώσεις απορροφούνται πιο γρήγορα. |
| Se | 33-80 | Υψηλή απορρόφηση για τις ανιονικές διαλυτές μορφές, οι αδιάλυτες ενώσεις απορροφούνται ελάχιστα. |
| Te | 25-88 | Για υδατοδιαλυτές ενώσεις. |

1.1.1.γ Απορρόφηση βαρέων μετάλλων από το δέρμα.

Το δέρμα δεν επιτρέπει την είσοδο νερού, σωματιδίων, ιονικών ανόργανων ειδών και υλικών μεγάλου μοριακού βάρους, αλλά δεν μπορεί να ελέγξει την είσοδο λιποδιαλυτών ουσιών. Το δέρμα είναι έτσι ευάλωτο στην απορρόφηση οργανομεταλλικών ουσιών καθώς και ουσιών που διαλύονται σε ορισμένους οργανικούς διαλύτες (πιν. 3).

Πιν.3: Απορρόφηση Βαρέων μετάλλων από το δέρμα (Fergusson JE.,1990)

| Στοιχείο | Μορφές μετάλλων | Απορρόφηση |
|----------|-----------------|--|
| Cd | Cd^{+2} | Περιορισμένη απορρόφηση. |
| Hg | Hg^{+2}, Hg | Ορισμένη ποσότητα απορροφάται αν εξαπλωθεί σε κατάλληλο μέσο |
| | Οργανικός | Απορροφάται |
| Tl | Tl^{+} | Μπορεί να απορροφηθεί |
| Pb | Pb^{2+} | Υπάρχουν περιπτώσεις απορρόφησης |
| | Οργανικός | Απορροφάται γρήγορα |
| As | Λιποδιαλυτό | Απορροφάται |

1.2 Διακίνηση των μετάλλων στα κύτταρα

Τα μακροστοιχεία Na^{+} , K^{+} , Mg^{+} , Ca^{+2} αποτελούν το 1% περίπου του βάρους του ανθρώπινου σώματος, ενώ τα μεταλλικά ιχνοστοιχεία (Mn, Fe, Cu, Co, Zn, Mo, V, Cr) αντιπροσωπεύουν λιγότερο από 0.01%. Το Na^{+} είναι το κύριο εξωκυτταρικό κατιόν ενώ

το K^+ το κύριο ενδοκυτταρικό, η αναλογία εξωκυτ. Na^+ / ενδοκυτ. K^+ διατηρείται χάρη στο μηχανισμό της ΑΤΡάσης Na-K η οποία ελέγχει την εκλεκτική απορρόφηση του K^+ από το πλάσμα στο κύτταρο και την απέκκριση του Na^+ προς το πλάσμα μέσω των κυτταρικών μεμβρανών. Η κυτταρική μεμβράνη είναι πολύ σημαντική για την τοξικολογία και την περιβαλλοντική βιοχημεία διότι ελέγχει τη διέλευση των τοξικών ουσιών και των παραγόντων τους. Η μεμβράνη δρά σαν 'ζωντανό φράγμα' εκλεκτικής διαπερατότητας που αποτελείται από πρωτεΐνες και λιπίδια. Τα κατιόντα των αλκαλιμετάλλων πρέπει να διασχίσουν αυτό το φράγμα από μια περιοχή με υψηλή διηλεκτρική σταθερά (πλάσμα) σε μια με χαμηλή διηλεκτρική σταθερά (διπλοστοιβάδα λιπιδίων). Έτσι απαιτείται ένα μόριο-μεταφορέας (υποκαταστάτης) που να εγκλωβίζει το κατιόν και να προσφέρει μια οργανική λιποδιαλυτή επιφάνεια στη μεμβράνη.

Όμως είναι δυνατόν να υπάρχει και παθητική διαπερατότητα παρουσία μεταφορέα για μια ουσία, ανεξάρτητα από την πηγή ενέργειας (διευκολυνόμενη διάχυση) ή το κύτταρο μπορεί να συσσωρεύει κατιόντα ενεργώντας ενάντια σε μια διαβάθμιση συγκεντρώσεως (ενεργός μεταφορά). Η υδρόλυση του ATP προς ADP, παρέχει την ενέργεια για τη διαδικασία αυτή (αντλία νατρίου). Ο καλύτερος μεταφορέας ιόντων είναι ένας υποκαταστάτης ο οποίος σχηματίζει ένα μετρίως σταθερό παρά ένα πολύ σταθερό σύμπλοκο, το οποίο δεν μπορεί να αποδεσμεύσει το ιόν ικανοποιητικά (Hay R., 1987).

Φαίνεται ότι γενικά τα κύτταρα καθορίζουν τη μεταφορά των μετάλλων και ρυθμίζουν την ενζυμική τους πολυπλοκότητα μέσω μιας σειράς μεμβρανικών υποκαταστατών αυξανόμενης εξειδίκευσης. Η υπερβολική ποσότητα μετάλλων προκαλεί διάρρηξη αυτών των συστημάτων δεσμεύσεως πρωτεϊνών και επιφέρει πιθανώς, τις βλαβερές συνέπειες οι οποίες εμφανίζονται στο μεταβολισμό των προσβεβλημένων από μέταλλα ζώων (πιν. 4).

Πιν. 4 : Διαταραχές που παρουσιάζονται από έλλειψη ή περίσσεια μετάλλων (Hay R., 1987)

| Στοιχείο/Μέταλλο | Ασθένειες | |
|------------------|---|---|
| | Μέταλλο σε έλλειψη | Μέταλλο σε περίσσεια |
| Ca | σκελετικές διαταραχές, τετανία | καταράκτης, χολόλιθοι, αθηροσκλήρωση |
| K,Co | αναιμία | στεφανιαία καρδιοπάθεια πολυκυτταραιμία |
| Li | μανιοκαταθλιπτική ψύχωση | |
| Mn | σκελετικές παραμορφώσεις γενετικές διαταραχές | |
| Mg | σπασμοί | αναισθησία |
| Na | νόσος του Addison κράμπες θερμαστών | |
| Se | νέκρωση του ήπατος νόσος λευκών μυών | |
| Fe | αναιμία | αιμοχρωμάτωση αιμοσιδήρωση |
| Cu | αναιμία, σύνδρομο του Menkes | νόσος του Wilson |
| Cr | ανώμαλος μεταβολισμός της γλυκόζης | |
| Zn | νανισμός, υπογοναδισμός | πυρετός από μεταλλικές αναθυμιάσεις |
| Cd | | νεφρίτιδα |
| Pb | | αναιμία, εγκεφαλίτιδα, νευρίτιδα |
| Hg | | εγκεφαλίτιδα, νευρίτιδα |

1.3 Μηχανισμοί δράσης ιχνοστοιχείων

Τα μεταλλικά ιόντα που είναι απαραίτητα για τη ζωή είναι τα Na, K, Mg, Ca, και V, Mn, Se, Fe, Co, Ni, Zn, Mo, Cu. Ο ρόλος τους εκτείνεται από ρυθμιστές των βιολογικών διεργασιών έως σημαντικά δομικά και λειτουργικά στοιχεία των πρωτεϊνών. Σε πολλές πρωτεΐνες, η θέση που δεσμεύεται το μεταλλικό ιόν είναι επίσης το ενεργό κέντρο του μορίου (Borovik AS., 1990).

Τα ιχνοστοιχεία απαιτούνται σε μικρές συγκεντρώσεις για τη δράση αρκετών ενζύμων, όπου μπορεί να σχηματίζουν ένα ασθενή ιονικό δεσμό (ενζυμικοί δραστηριοποιητές) ή ένα αναπόσπαστο κομμάτι του ενζύμου (μεταλλοένζυμα). Η απομάκρυνση ενός μετάλλου από ένα μεταλλοένζυμο καθιστά αυτό το ένζυμο ανενεργό. Επίσης σε ορισμένες περιπτώσεις η αντικατάσταση ενός μετάλλου από ένα άλλο μπορεί να μεταβάλλει τη δραστηριότητα του ενζύμου και να επιφέρει μειωμένη ενζυματική δράση. Όμως αν έχουν σχηματιστεί χαλαροί ιονικοί δεσμοί μερικά ιόντα μπορεί να είναι ενδοανταλλάξιμα π.χ. το Mn μπορεί να αντικαταστήσει το Mg στην καρβοξυλάση της ζύμης.

Ο Zn φέρεται ως συνένζυμο σε περισσότερα από 200 ένζυμα (π.χ. καρβονική ανυδράση, ένζυμα μεταγραφής, δεϋδρογονάση της αλκοόλης, αλκαλική φωσφατάση). Ο Cu είναι παρών σε αρκετά ένζυμα που εμπλέκονται στην οξείδωση όπως π.χ. τυροσίν-αμινόξειδάση, κυτοχρωμική οξειδάση, σερουλοπλασμίνη, οξειδάση ασκορβικού οξέος και άλλες. Ο Fe βρίσκεται στα κυτοχρώματα: στην ηλεκτρική αφυδρογονάση, στην αίμη της αιμογλοβίνης κ.α.

Δύο από τις πιο σημαντικές λειτουργίες στις οποίες παίζουν ρόλο τα μεταλλικά ιόντα είναι η μεταφορά ηλεκτρονίων και η δέσμευση οξυγόνου με ή χωρίς ενεργοποίησή του, π.χ. η πλαστοκυανίνη, μια πρωτεΐνη που βασίζεται στον Cu, βρίσκεται στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων της φωτοσύνθεσης, ενώ η αιμογλοβίνη είναι μια πρωτεΐνη του Fe η οποία λειτουργεί για τη μεταφορά O₂ και CO₂ στα θηλαστικά. Οι παράγοντες που επιτρέπουν στα μέταλλα να έχουν τέτοιο ευρύ ρόλο στη φύση είναι η ικανότητά τους να δέχονται και να προσφέρουν ηλεκτρόνια και να συνδέονται με διάφορες ομάδες, κυρίως σουλφιδριλομάδες. Δηλαδή μπορούν εύκολα να δρουν ως οξειδωτικά ή αναγωγικά στις βιοχημικές διεργασίες ή να επεκτείνουν τη δραστηριότητα τους δεσμεύοντας υποστρώματα (Bertini I. et al., 1992, Borovik AS., 1990).

Οι πρωτεΐνες που περιέχουν Cu και Fe κυριαρχούν στη διαδικασία της μεταφοράς ηλεκτρονίων όπου το πεπτιδικό ή πρωτεϊνικό συστατικό εμφανίζεται ως ο 'συντονιστής' του μεταλλικού κέντρου για τον απαιτούμενο οξειδωαναγωγικό ρόλο.

Τα μεταλλικά ιόντα αντιδρούν με το οξυγόνο ή το άζωτο του πεπτιδικού δεσμού των πρωτεϊνών. Ορισμένα βαρέα μέταλλα όπως ο Pb, Cd αποτελούν τοξικούς παράγοντες γιατί μπορούν και δεσμεύονται σε λειτουργικές ομάδες στην επιφάνεια των πρωτεϊνών και συνεπώς αλλάζουν τη δομή τους. Μεγάλης σημασίας είναι οι επιδράσεις των τοξικών ουσιών στα ένζυμα ενώ ο κύριος μηχανισμός τοξικότητας είναι η καταστροφή ή η αλλαγή λειτουργίας τους. Ένα ένζυμο το οποίο έχει αποδομηθεί δεν είναι ικανό να παρέχει τη συγκεκριμένη λειτουργία του, ενώ ένζυμο που έχει υποστεί αλλαγή της λειτουργίας του μπορεί να είναι ανενεργό ή να έχει εσφαλμένη δράση. Τα βαρέα μέταλλα επομένως μπορούν να δράσουν ως ενζυμικοί αναστολείς είτε καταργώντας είτε καθυστερώντας την κινητική των αντιδράσεων.

1.4 Ελλείψεις ιχνοστοιχείων

Η έλλειψη ιχνοστοιχείων οδηγεί συχνά σε τερατογένεση και οι πιθανοί μηχανισμοί εξαρτώνται από την ειδική σημασία κάθε ιχνοστοιχείου στις βιοσυνθετικές διαδικασίες. Η έλλειψη Mn έχει άμεση σχέση με την ακεραιότητα των μεμβρανών, προκαλεί μείωση της σύνθεσης των βλεννοπολυσακχαριτών οι οποίοι με τη σειρά τους

οδηγούν σε ανώμαλη ανάπτυξη των ωτολίθων, δυσγενεσία του σκελετού, καθώς και άλλων μεταβολικών ανωμαλιών (Prasad AS., 1985, Hurley L., 1976).

Η έλλειψη Fe αυξάνει τον ηπατικό μεταβολισμό φαρμάκων, ενώ η έλλειψη K και Mg επηρεάζει την ηπατική λειτουργία. Παρατηρήθηκαν επίσης επιδράσεις λόγω έλλειψης Mg, K, Fe στην παραγωγή και το μέγεθος των όγκων πειραματοζώων (Falchuk K.H., 1991, Becking GC., et al 1976).

Σε πειραματικές εργασίες σε επίμυες η έλλειψη Ni οδηγεί σε καθυστέρηση της ανάπτυξης και αναιμία, ενώ η τοξικότητα λόγω Ni μπορεί να προκαλέσει ναυτία, εμετό, αδυναμία και πονοκέφαλο, επίσης είναι δυνατό να προκαλέσει έμφραγμα του μυοκαρδίου, καρκίνο του πνεύμονα, δερματίτιδα και αναιμία. Το Ni είναι επίσης και νεφροτοξικός παράγοντας. Το Cr είναι ένα απαραίτητο ιχνοστοιχείο που απαιτείται για τη σωστή δράση της ινσουλίνης. Η έλλειψη Cr οδηγεί σε διαταραχή της ανοχής της γλυκόζης, υπερλιπιδαιμία και πιθανά αρτηριοσκλήρυνση (Danielson B.G., 1985).

Τα απαραίτητα ιχνοστοιχεία όπως Zn, Cu και Se δρουν και ως αντιοξειδωτικά και μπορούν να παίξουν ένα ρόλο κλειδί στην άμυνα του σώματος κατά των ελευθέρων ριζών και των ενεργών μορίων οξυγόνου. Η έλλειψη από την καθημερινή διαίτα αντιοξειδωτικών ουσιών θεωρείται σημαντικός παράγοντας ανάπτυξης καρκίνου, καθώς και πολλών εκφυλιστικών ασθενειών, οι οποίες θεωρούνται ασθένειες των ελευθέρων ριζών όπως π.χ. οι καρδιαγγειακές. Η επίδραση Cu/Zn στη δισμουτάση του υπεροξειδίου (Cu/Zn – SOD) σχετίζεται με την καταστροφή των ελευθέρων ριζών και την προστασία των φυσιολογικών λειτουργιών συμπεριλαμβανομένων και των καρδιαγγειακών (Kadrabova J., 1995).

Οι διάφορες ελλείψεις Cu ποικίλουν και εξαρτώνται από το βαθμό και τη διάρκεια αυτής της έλλειψης, την ηλικία, το φύλο, τον τύπο των υδρογονανθράκων της διατροφής καθώς και από τα μέταλλα που συμπροσλαμβάνονται και ιδιαίτερα τον Zn. Ο Zn και ο Cu συνδυάζονται με αρκετούς κοινούς υποκαταστάτες σαν αποτέλεσμα της χημικής τους ομοιότητας και εμφανίζουν αλληλεξάρτηση αλλά και ανταγωνισμό ιδιαίτερα στην εντερική απορρόφηση. Η παρουσία του Zn είναι απαραίτητη για την απορρόφηση αλλά και τις δράσεις του Cu και αντιστρόφως. Αυξημένες όμως συγκεντρώσεις Zn προκαλούν μειωμένη πρόσληψη Cu κυρίως λόγω επαγωγής της εντερικής μεταλλοθειονίνης που δεσμεύει τόσο τον Cu αλλά και το Cd που εισέρχεται με τις υπό πέψη τροφές (Wergman M., 1992). Τα δύο μέταλλα φαίνεται επίσης να αλληλεπιδρούν με τα ενδοκυτταρικά συστατικά και να επηρεάζονται από το ενδοκρινικό σύστημα με τον ίδιο σχεδόν τρόπο (Eichhorn G.L., 1985, Hay R., 1987).

Η βιολογική σημασία των νουκλεϊκών οξέων και ορισμένων νουκλεοτιδίων εξαρτάται επίσης από τα μεταλλικά ιόντα. Έτσι το Mg^{+2} συμμετέχει στην υδρόλυση του ATP προς ADP, η βάση, η φωσφορική ρίζα και η ριβόζη του DNA αποτελούν όλα δυναμικές θέσεις σύνδεσης για τα μεταλλικά ιόντα. Η έλλειψη του Zn προκαλεί ανωμαλίες στη σύνθεση νουκλεϊκών οξέων και κατά συνέπεια αποσυγχρονισμό στην ιστογένεση και οργανογένεση (Prasad AS., 1985).

Σε μερικά είδη όγκων όπως το σάρκωμα M-1 και Walker 256 sarcoma, τα επίπεδα Zn, Fe, Co, Sb ήταν υψηλότερα στο DNA και στο RNA που απομονώθηκαν σε ιστό όγκου απ' ότι στο φυσιολογικό ηπατικό ιστό των επίμυων ενώ ο Zn είναι πολύ σημαντικός για τη γρήγορη κυτταροδιαίρεση που χαρακτηρίζεται από έντονη σύνθεση νουκλεϊκού οξέος (Issaq HJ., 1985, Matrisian LM. et al., 1991).

1.5 Μηχανισμοί τοξικότητας μετάλλων

Η περίσσεια ενός ελεύθερου μετάλλου μπορεί να προκαλέσει τοξικά συμπτώματα αντιδρώντας κατά μη εξειδικευμένο τρόπο με πρωτείνες ή βιομόρια διαταράσσοντας το φυσιολογικό μεταβολισμό άλλων μετάλλων (Van Rig AM. et al., 1990).



Οι μοριακοί μηχανισμοί τοξικότητας των μετάλλων ασκούνται ως εξής:

- Αντικαθιστούν και εκτοπίζουν τα απαραίτητα μεταλλικά ιόντα από τα βιομόρια καθώς και από άλλες βιολογικές μονάδες δράσεως
- Αποκλείουν απαραίτητες δραστικές ομάδες των βιομορίων συμπεριλαμβανομένων των ενζύμων και πολυνουκλεοτιδίων
- Τροποποιούν την ενεργό συναρμολόγηση - προσαρμοστικότητα των βιομορίων ιδιαίτερα των ενζύμων και των πολυνουκλεοτιδίων
- Καταστρέφουν, διαταράσσουν την ακεραιότητα των βιομορίων
- Τροποποιούν κάποια άλλη βιολογικά ενεργό ουσία - παράγοντα.

Οι 3 πρώτοι μηχανισμοί οφείλονται στην ικανότητα των μετάλλων να δεσμεύουν ισχυρά το οξυγόνο, το άζωτο και τα άτομα θείου. Αυτά τα άτομα είναι άφθονα στα βιολογικά συστήματα και μπορούν να υποκατασταθούν από τα μεταλλικά ιόντα. Σε πολλές περιπτώσεις το μεταλλικό ιόν μιας ενεργής θέσης μπορεί να εκτοπισθεί από ένα άλλο διαφορετικό ιόν σχηματίζοντας ένα παράγωγο με διαφορετική ή καθόλου βιολογική δραστηριότητα. Επιπλέον τα τοξικά μεταλλικά ιόντα μπορούν να συνδυαστούν με τις δραστικές ομάδες των πρωτεϊνών και να μετατρέψουν την πρωτεΐνη σε ανενεργή (αυτό γίνεται ιδιαίτερα με τον Hg^{+2} ο οποίος έχει μεγάλη τάση σύνδεσης με τα άτομα του θείου ($\kappa=1 \cdot 10^{24}$)). Είναι γνωστό δε ότι τα πολυπεπτιδία που δεσμεύουν μεταλλικά ιόντα στα ζώα και τα φυτά, έχουν υψηλή συγκέντρωση κυστεΐνης, που είναι πλούσια σε σουλφυδριλικές ομάδες (Fergusson J., 1990, Hay R., 1987, Song M.K. et al., 1985).

Η τοξικότητα και η βιολογική διαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων εξαρτάται από τη φυσικοχημική τους κατάσταση.

Μια από τις πιο σημαντικές περιβαλλοντικές παραμέτρους είναι το pH. Σε οξειδωτικές συνθήκες τα μέταλλα τείνουν να υπάρχουν ως ελεύθερα τοξικά ενυδατωμένα ιόντα, ενώ σε αλκαλικά περιβάλλοντα (όπως θαλασσινό νερό) μπορούν να καθιζάνουν ως αδιάλυτα σύμπλοκα. Έτσι η αύξηση του pH (αλκαλοποίηση) μπορεί να μειώσει την τοξικότητα των βαρέων μετάλλων. Επιπλέον τα ιόντα H^+ μπορούν να είναι ανταγωνιστικά με τα ελεύθερα ιόντα μετάλλων και έτσι η μείωση του pH μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της τοξικότητας του μετάλλου. Επίσης η τοξικότητα των Pb, Cu, Zn, Cd, Hg μπορεί να μειωθεί με την παρουσία αλάτων Ca, Mg κυρίως λόγω της συγκαταβίθησης και έτσι μπορεί να εξηγηθεί κατά ένα μέρος η μειωμένη τοξικότητα που σχετίζεται με την αύξηση της σκληρότητας στα γλυκά νερά. Επίσης ο απ'ευθείας ανταγωνισμός Ca^{+2} , Mg^{+2} και μετάλλων μπορεί να μειώσει την τοξικότητα αυτών (Bertini I. et al., 1992, Fergusson J.E., 1990).

Τα θρεπτικά άλατα επίσης επηρεάζουν την τοξικότητα. Ο φώσφορος (ως φωσφορικό άλας) μειώνει την τοξικότητα των μετάλλων προκαλώντας καθίζηση. Η παρουσία οργανικών ουσιών εξάλλου που προέρχονται από φύκη μπορεί να μειώσει την τοξικότητα των βαρέων μετάλλων καθώς και η πυκνότητα των φυκών είναι αρνητικά συσχετιζόμενη με την τοξικότητα εξαιτίας των αυξημένων θέσεων δέσμευσης των μετάλλων που διαθέτουν (Fergusson J.E., 1990).

1.5.1 Μηχανισμοί καρκινογένεσης μετάλλων

Για να προσδιοριστεί ο ρόλος των μετάλλων στην καρκινογένεση απαιτείται μια καλή γνώση του τρόπου με τον οποίο τα μέταλλα επηρεάζουν τη γενετική ρύθμιση. Τα διάφορα στάδια μεταβίβασης της πληροφορίας, η αντιγραφή του DNA, η σύνθεση RNA και η σύνθεση πρωτεϊνών, απαιτούν ιόντα μετάλλων. Η μετάφραση των βάσεων των νουκλεοτιδίων ενός αγγελιοφόρου RNA (mRNA) προς μια σειρά αμινοξέων πρωτεϊνών που συντελείται στα ριβοσωμικά σωμάτια του κυτταροπλάσματος, περιλαμβάνει πολλά

στάδια, καθένα από τα οποία περιλαμβάνει τη συμμετοχή ιόντων μετάλλων. Ο βασικός μηχανισμός καρκινογόνου δράσης των μετάλλων αποδίδεται στη σύνδεση των μεταλλικών ιόντων με τις βάσεις των νουκλεϊκών οξέων, κυρίως του DNA, λόγω του ότι τα μέταλλα είναι ηλεκτροφιλικά (Cd^{+2}, Ni^{+2}) και μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τις νουκλεοφιλικές θέσεις των μακρομορίων (Issaq HJ., 1985, Hoadley JE. et al., 1987).

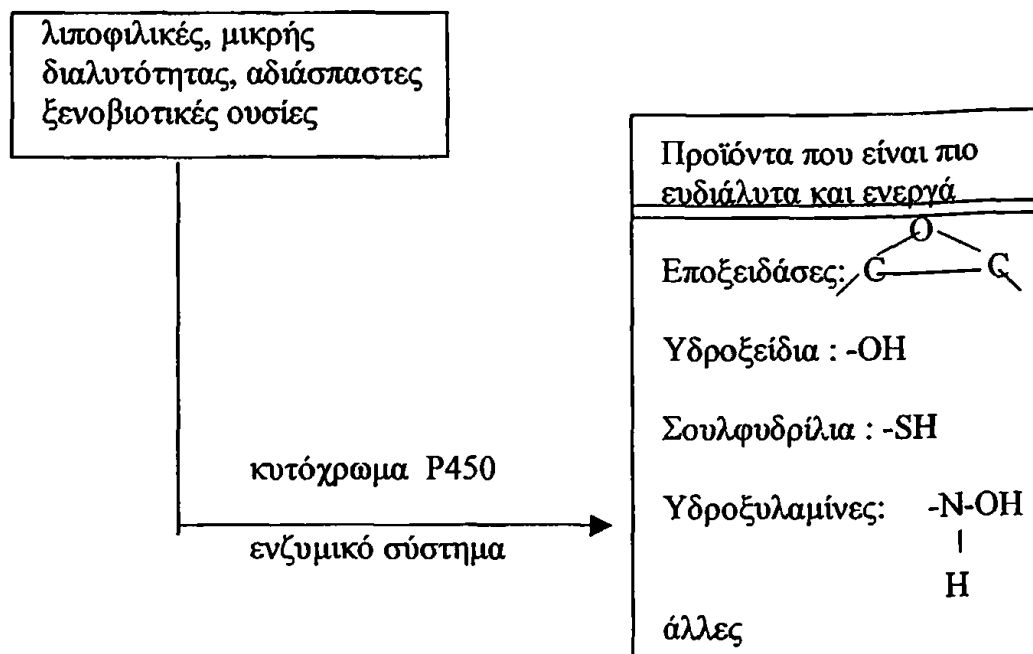
Φάσεις της πρωτεινοσύνθεσης που απαιτούν τη συμμετοχή μεταλλικών ιόντων είναι η ισοροπία μεταξύ των ριβοσωμάτων και των υπομονάδων τους, η σταθεροποίηση του μεταφορικού (tRNA), καθώς και η τροφοδότησή του με αμινοξέα. Τα μόρια των νουκλεϊκών οξέων περιέχουν πολλές ομάδες δοτών ηλεκτρονίων που χρησιμοποιούνται ως υποκαταστάτες από τα μεταλλικά ιόντα. Τα ιόντα αυτά είναι δυνατόν να δεσμεύονται στις νουκλεοτιδικές βάσεις ή στις φωσφορικές ρίζες τους και να προκαλούν μια ποικιλία δραματικών αλλαγών στην σύσταση των νουκλεϊκών οξέων.

Η σύνθεση του DNA είναι μια πολύπλοκη διαδικασία που εμπλέκει μια ποικιλία ενζύμων, συμπεριλαμβανομένης της DNA πολυμεράσης. Το ένζυμο αντιγράφει ένα κλάδο του DNA με ενσωμάτωση των συμπληρωματικών βάσεων από τα τριφωσφορικά νουκλεοσίδια και περιέχει ισχυρά δεσμευμένο Zn, ο οποίος συνεισφέρει στη δέσμευση του ενζύμου με το DNA. Για να ολοκληρωθεί η λειτουργία αυτή του ενζύμου πρέπει να ενεργοποιηθεί από δισθενή κατιόντα όπως Mg^{+2} , Mn^{+2} τα οποία δεσμεύουν τα τριφωσφορικά υποστρώματα των νουκλεοσιδίων με το ένζυμο. Έχει παρατηρηθεί ότι τα ενεργοποιημένα ιόντα μετάλλου συμμετέχουν σ' αυτή την ενζυμική αντίδραση. Η ικανότητα της DNA πολυμεράσης I να ξεχωρίζει μεταξύ δύο μονομερών τύπων εξαρτάται από τη φύση του μετάλλου που χρησιμοποιείται για να ενεργοποιηθεί το ένζυμο. Έτσι η παρουσία Mg^{+2} βεβαιώνει τη συμμετοχή των δεσοξυριβοζο-νουκλεοτιδίων, ενώ το Mn^{+2} επιτρέπει την ταυτόχρονη συμμετοχή των ριβονουκλεοτιδίων. Συνεπώς η παρουσία του Mn^{+2} οδηγεί στη συμμετοχή του λανθασμένου σακχάρου και επίσης προκαλεί μείωση της ακρίβειας της σύνθεσης DNA όσον αφορά τη συμμετοχή των βάσεων (Endre L. et al., 1990, Fergusson J., 1990).

Όταν το ιόν Mn^{+2} χρησιμοποιείται ως ενεργοποιητής στην RNA πολυμεράση, το ένζυμο δεν διαχωρίζει τα ριβο- και δεσοξυριβονουκλεοτίδια και προκαλεί σφάλμα στη συμμετοχή τους. Η συμμετοχή εξάλλου των μεταλλικών ιόντων είναι πολύ σημαντική στην πρωτεινοσύνθεση αλλά μια μεγάλη συγκέντρωση αυτών, προκαλεί τη σύνδεση των λάθος αμινοξέων. Επίσης μεγάλος αριθμός μεταλλικών ιόντων (Pb^{+2}, Zn^{+2}) που δεσμεύονται με φωσφορικά προκαλεί εκφύλιση του RNA (Eichhorn CL, 1985).

Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι τα επίπεδα Zn, Mg, Fe, Cu, Ca της διαίτας επηρεάζουν το ρυθμό μεταβολισμού των φαρμάκων. Πολλές ενζυματικές αντιδράσεις εμπλέκονται στο μεταβολισμό των φαρμάκων ή ξένων ουσιών και ένα από τα πιο γνωστά ενζυμικά συστήματα που εμπλέκονται στον μεταβολισμό αυτόν καθώς και στις ενδογενείς στεροϊδείς ορμόνες, είναι το μικροσωμικό σύστημα οξειδωσης, κυτόχρωμα P450. Αυτά τα ενζυμικά συστήματα βρίσκονται σε διάφορους ιστούς και καλούνται συστήματα τοξικότητας - αποτοξικότητας και περιέχουν Fe^{+2}/Fe^{+3} . Το ενζυμικό σύστημα P450 καταλύει ορισμένες αντιδράσεις (τις αντιδράσεις φάσης I) οι οποίες λαμβάνουν χώρα κατά την είσοδο των ξενοβιοτικών παραγόντων στον οργανισμό. Οι αντιδράσεις αυτές μετατρέπουν τους εξωγενείς παράγοντες σε πιο ευδιάλυτες και δραστικές μορφές με την προσκόλληση σε αυτές πολικών ομάδων όπως της ομάδας υδροξυλίου -OH (εικ. 1) (Danielson BG. et al., 1985, Prasad AS., 1988, Becking GC, 1976).





Εικ. 1: Αντιδράσεις των ξενοβιοτικών ουσιών στον οργανισμό

Οι ξενοβιοτικοί (κυρίως οργανικοί) παράγοντες μετά τη φάση των παραπάνω ενζυμικών αντιδράσεων και αφού έχουν αποκτήσει πολικότητα, επιδέχονται μια σειρά άλλων αντιδράσεων (φάση II) όπου μετατρέπονται σε λιγότερο τοξικές μορφές, λιγότερο λιποδιαλυτές, περισσότερο ευδιάλυτες και απεκκρίνονται πιο εύκολα από τον οργανισμό. Τα κυριότερα ενζυμικά συστήματα που καταλύουν τις παραπάνω αντιδράσεις είναι τα γλυκουρονικά (UDP glucuronyltransferase enzyme), η γλουταθειόνη (glutathionetransferase enzyme), τα θειικά (sulfotranferase enzyme), και τα ακετυλικά (acetyltransferase enzymes). Τα βαρέα μέταλλα επιδρούν και συνήθως αναστέλλουν τη δράση πολλών από τα παραπάνω ενζυμικά συστήματα όπως π.χ. του κυτοχρώματος P450 και της γλουταθειόνης (Kadrabova J. et al., 1995).

1.5.2 Όργανα - στόχοι των μετάλλων

Ένας αριθμός βαρέων μετάλλων είναι τοξικός λόγω αλληλεπιδράσεων με βιοχημικές ενώσεις που περιέχουν θείο όπως τα ένζυμα και οι πρωτεΐνες. Μερικά από αυτά τα μέταλλα είναι ασθενή οξέα που αντιδρούν ισχυρά με ασθενείς βάσεις όπως αυτές του θείου(S). Είναι γνωστό ότι οι νεφροί αποτελούν όργανο - στόχο των ιόντων Cd^{+2} και Hg^{+2} , ενώ ο εγκέφαλος είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος στον μεθυλιούχο Hg (CH_3Hg^+). Το αιμοποιητικό σύστημα και ο εγκέφαλος προσβάλλονται εκλεκτικά από τον Pb, ενώ το As προσβάλλει πολλά όργανα (πιν. 5).



Πιν. 5: Ιστοί - όργανα που επηρεάζονται από τα βαρέα μέταλλα (Fergusson J.E., 1990)

| Όργανο / περιοχή | Στοιχείο | Επιδράσεις |
|------------------------------|--|---|
| Κ.Ν.Σ. | CH ₃ Hg ⁺ , Hg Pb ⁺² Tl | εγκεφαλικές βλάβες μειωμένη νευροφυσιολογική λειτουργία όγκοι εγκεφάλου |
| Π.Ν.Σ. | CH ₃ Hg ⁺ , Hg Pb ⁺² As | αταξία και παθολογικά αντανεκλαστικά περιφερικές νευρολογικές επιδράσεις περιφερική νευροπάθεια |
| Νεφρικό σύστημα | Cd Hg ⁺² As | σωληναριακές και σπειραματικές βλάβες, πρωτεϊνουρία σωληναριακή νέκρωση σωληναριακή δυσλειτουργία |
| Ήπαρ | As | κίρρωση |
| Αιμοποιητικό σύστημα | Pb Cd As | αναστολή βιοσύνθεσης της αίμης αναιμία αναιμία |
| Ρινική / στοματική κοιλότητα | Hg ⁺² | στοματίτιδα |
| Στόμαχος | As | έλκος |
| Τρίχες | Tl | τριχόπτωση |
| Αναπνευστικό σύστημα | Cd As Hg Se | εμφύσημα εμφύσημα και ίνωση βρογχική αντίδραση φλεγμονή |
| Σκελετικό σύστημα | Cd Se | οστεομαλακία οδοντική δυσπλασία |
| Καρδιαγγειακό σύστημα | Cd As | |
| Αναπαραγωγικό σύστημα | CH ₃ Hg ⁺ , Hg As | αποβολές εμβρύων |
| Τερατογένεση | CH ₃ Hg ⁺ Tl | παραμορφώσεις εγκεφάλου και σώματος παραμορφώσεις εμβρύων |
| Καρκίνος | Cd As | προστατικός αδένας, πνεύμονες δέρμα, πνεύμονες |
| Χρωμοσωμικές αλλοιώσεις | Cd As | |

1.6 Μηχανισμοί αποτοξίκωσης μετάλλων

Μελετήθηκαν τα κυτταρικά συστήματα αποτοξίκωσης ενός αριθμού ασπονδύλων και παρατηρήθηκε ο σχηματισμός λίαν δυσδιάλυτων ανόργανων κοκκίων μέσα σε κυστίδια ειδικών κυττάρων. Στα κοινά σαλιγκάρια τα κοκκία αυτά έδειξαν να περιέχουν μεγάλες ποσότητες πυροφωσφορικών (P₂O₇⁴⁻). Ανόργανα κοκκία αυτού του είδους απαντώνται κατ' ουσίαν σε κάθε φύλο ασπονδύλων και ενεργούν αποτελεσματικά για την απομάκρυνση ορισμένων βαρέων μετάλλων (Bertini I. et al., 1992, Fergusson J.E., 1990).

Οι μηχανισμοί αποτοξίκωσης των μετάλλων προκαλούν:

- Δέσμευση των μετάλλων σε ορισμένες πρωτεΐνες συνήθως μεταλλοθειονίνες αλλά και άλλες όπως π.χ. αιμοσιδηρίνη, σερούλοπλασμίνη.
- Εξωκυτταρική αποθήκευση μετάλλου
- Συσσώρευση μετάλλων από τα κύτταρα του αίματος



- Απόσυρση των μετάλλων σε οργανίδια (μιτοχόνδρια, λυσοσώματα, κοκκία CaPO_4).

Μερικοί οργανισμοί είναι γνωστό ότι μειώνουν την βιοδιαθεσιμότητα ενός τοξικού μετάλλου, μέσω της απελευθέρωσης μεταβολιτών που δρουν σαν χηλικές. Η μείωση της συσσώρευσης μετάλλου φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην αντίσταση των πειραματοζώων στα μέταλλα (π.χ. αντίσταση σε προκαλούμενη με Cd νέκρωση των όρχεων σε ποντίκια). Έχουν εξεταστεί αρκετά είδη μεταλλοθειονινών και παρόμοιων πρωτεϊνών από διάφορα είδη ζώων και έχει δειχθεί ότι αυτές οι πρωτεΐνες παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση των απαραίτητων μετάλλων. Αυτές οι πρωτεΐνες επάγονται -μεταξύ άλλων- από τα Cd, Cu, Hg και δρουν σαν αποτοξικωτικοί παράγοντες όταν τα επίπεδα των απαραίτητων και μη απαραίτητων μετάλλων αυξάνονται σε επικίνδυνο σημείο (Irato P. et al., 1996, Klerks PL., 1990, Issaq HJ., 1985).

1.7 Μεταλλοθειονίνες

Έχουν απομονωθεί κυρίως από το ήπαρ και τους νεφρούς αλλά απαντούν σχεδόν σε όλους τους ιστούς και εμφανίζουν μεγάλη τάση πρόσληψης διαφόρων μετάλλων, κυρίως Zn, Cd, Cu. Έχει βρεθεί ότι το Cd καθώς και άλλα μη απαραίτητα μέταλλα (Bs, Hg, Au, Ag) όχι μόνο δεσμεύονται από αυτές τις πρωτεΐνες αλλά και επάγουν τη σύνθεσή τους σε διάφορα όργανα.

Ο βιολογικός ρόλος των μεταλλοθειονινών συνίσταται από την ικανότητα να δεσμεύουν μέταλλα μέσω των ελεύθερων κυστεϊνικών τους θέσεων, προσφέρουν προστασία κατά των τοξικών μετάλλων και ρυθμίζουν την ομοίωση των ιχνοστοιχείων Cu, Zn. Επίσης παίζουν σημαντικό ρόλο στη διάλυση των μετάλλων στο κυτταρόπλασμα καθώς και αποθήκευση και αποτοξίκωση των υπερβολικών ποσοτήτων μετάλλων κυρίως στα λυσοσώματα. Οι μεταλλοθειονίνες είναι μικρές πρωτεΐνες με μεγάλη περιεκτικότητα σε κυστεΐνες, μπορούν να δεσμεύσουν έως επτά ιόντα Zn^{+2} ή Cd^{+2} ανά μόριο. Έχοντας υψηλή συγκέντρωση μετάλλων, οι μεταλλοθειονίνες παίζουν το ρόλο της πρωτεΐνης - αποθήκης για τον απαραίτητο Zn^{+} . Η δράση των μεταλλοθειονινών στο να δεσμεύσουν πολύ ισχυρά τα τοξικά μεταλλικά ιόντα όπως Cd και Hg, τις κατατάσσει στους αποτοξινωτές αυτών των μετάλλων (Bertini I., et al., 1992).

Στους επίμυες σε φυσιολογικές συνθήκες η δέσμευση του ηπατικού Cu στις μεταλλοθειονίνες πιθανώς εξαρτάται από προηγούμενη επαγωγή της σύνθεσης των πρωτεϊνών από Zn ή κάποιο άλλο μέταλλο (Irato P. et al., 1996, Endre L. et al., 1990).



2. ΤΑ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΙ Η ΒΙΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥΣ

2.1 ΧΑΛΚΟΣ (Cu)

2.1.1 Βιολογικός ρόλος Cu

Ο Cu σε διάλυμα εμφανίζεται υπό οξειδωτικές συνθήκες ως Cu^+ , Cu^{+2} και εμπλέκεται σε ποικίλες λειτουργίες, όπως σύνθεση της αίμης (ειδικά στη μεταφορά και απορρόφηση Fe^{+2}), στην καρδιακή λειτουργία, στο μεταβολισμό του συνδετικού ιστού, τη διάπλαση των οστών, τη μυελίνωση της νωτιαίας χορδής και τη σύνθεση των χρωστικών των ιστών. Επίσης ο Cu^{+2} αποτελεί σημαντικό συστατικό βασικών μεταλλοενζύμων όπως π.χ. της οξειδάσης του κυτοχρώματος, οξειδάσης της λυσίνης, οξειδασών των πολυφαινολών, αμινοξειδασών αλλά και των πολύ σημαντικών δισμουτασών υπεροξειδίου με τη μορφή χαλκοψευδαργυρικών πρωτεϊνών στο ήπαρ στα ερυθρά αιμοσφαίρια και στον εγκέφαλο αλλά και σε πολλούς άλλους ιστούς. Ο χαλκός έχει επίσης σημαντικό ρόλο στη λειτουργία των μιτοχονδρίων. Η λειτουργία του χαλκού μέσα στα μεταλλοένζυμα αφορά μεταφορά ηλεκτρονίων και ενζυματική σύνδεση μοριακού οξυγόνου (O_2). Η λυσινοοξειδάση που περιέχει Cu^{+2} , είναι απαραίτητη για τη βιοσύνθεση του συνδετικού ιστού ενώ η δράση του ενζύμου αυτού στο ήπαρ συνδέεται με τη σύνθεση του κολλαγόνου κατά την ηπατική ίνωση. Άλλα είδη χαλκοενζύμων στους ιστούς των θηλαστικών είναι: η σερουλοπλασμίνη (πλάσμα), η διαμιν-οξειδάση (νεφρός), η οξειδάση του κυτοχρώματος C (μιτοχόνδρια), δισμουτάση του υπεροξειδίου (ερυθροκύτταρα και καρδιά), η οξειδάση των ουρικών (ήπαρ και νεφρά), η β-υδροξυλάση της ντοπαμίνης (φλοιός επινεφριδίων) (Siegel RC., 1979, Boyd LO., 1976, Βεζυράκη Π., 1991).

Η έλλειψη Cu^{+2} συνδέθηκε, για πρώτη φορά, με την καρδιακή ανεπάρκεια το 1971, όταν παρουσιάστηκαν αιφνίδιοι θάνατοι στα βοοειδή λόγω καρδιακής βλάβης και αποδόθηκαν στη μυϊκή ατροφία και στη συνακόλουθη ίνωση του μυοκαρδίου. Ο Cu παίζει σημαντικό ρόλο στην αναπαραγωγική διαδικασία, καθώς η έλλειψή του φαίνεται να προκαλεί στειρότητα στα ινδικά χοιρίδια και στους επίμυες ενώ στις γάτες έχει παρατηρηθεί υπερπλασία του φλοιού των επινεφριδίων καθώς και αυξημένη παραγωγή ACTH. Ο ρόλος του Cu είναι σημαντικός στη σύνθεση κατεχολαμινών και στη λειτουργία του μυελού των επινεφριδίων (Henkin RI. 1974, Underwood EJ. 1971). Η έλλειψη Cu, λόγω μειωμένης απορρόφησης (π.χ. ασθένεια Menkes) επηρεάζει και το κεντρικό νευρικό σύστημα κατά το στάδιο της ανάπτυξης (το σύνδρομο Menkes εμφανίζεται και στα νεογέννητα). Έτσι γίνεται φανερό ότι ο Cu παίζει σημαντικό ρόλο στη φυσική (κινητικότητα) και διανοητική υγεία (Bell LO., 1976).

2.1.2 Απορρόφηση του Cu

Ο χαλκός που εισέρχεται στον οργανισμό μέσω της διαίτας, απορροφάται από το στομάχι και το λεπτό έντερο. Στους ενήλικες η ποσότητα που απορροφάται είναι 2.5 mg/ημέρα. Η απέκκριση του Cu γίνεται μέσω της χολής, η οποία αποτελεί και τη σημαντικότερη απεκκριτική του οδό. Κατά τη φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού πολύ μικρές ποσότητες Cu χάνονται από τα ούρα αλλά οι απώλειες αυτές μεγαλώνουν σε περίπτωση αμινοξυουρίας. Ο Cu εισέρχεται στην πυλαία κυκλοφορία συνδεδεμένος κύρια με λευκωματίνη και πιθανώς με αμινοξέα σαν σύμπλεγμα. Η κανονική – συστηματική μεταφορά του Cu στο ήπαρ γίνεται με τη μορφή σερουλοπλασμίνης τα

επίπεδα της οποίας αυξάνονται σε συνθήκες διαφόρων εντάσεων (stress) καθώς και ασθενειών (Guyton, 1998).

Διάφορα διαιτητικά συστατικά όπως ίνες, φυτικά οξέα, θειομολυβδικό οξύ και αμινοξέα επηρεάζουν τη μεταφορά του Cu κατά το μήκος της παρυφής της εντερικής ψηκτροειδούς μεμβράνης. Ο βαθμός πρόσληψης του Cu στο πεπτικό σύστημα ρυθμίζεται από τον ανταγωνισμό που υπάρχει στις θέσεις των σημείων σύνδεσης. Στον εντερικό αυλό μπορεί να συμβεί μια αλληλεπίδραση των ιόντων Cu και Zn. Έχει φανεί ότι διήθηση απομονωμένου εντέρου, με διαλύματα υψηλής περιεκτικότητας Zn προκαλεί μείωση της πρόσληψης του Cu από τα βλεννογόνια κύτταρα, ενώ παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και σε *in vitro* πειράματα. Όμως δεν είναι και τόσο ξεκάθαρο αν η περίσσεια Zn ανταγωνίζεται έναν ειδικό υποδοχέα του Cu πάνω στην ψηκτροειδή μεμβράνη ή στις ενδοκυττάριας θέσεις ή συναγωνίζεται με τον Cu για τις ειδικές θέσεις απορρόφησης. Επίσης έχει παρατηρηθεί ότι μια δίαιτα με χαμηλή περιεκτικότητα Zn αυξάνει την πρόσληψη και την απορρόφηση του Cu αλλά και του Zn.

Τόσο ο Cu όσο και ο Zn επάγουν τη μεταλλοθειονίνη, αλλά μεγαλύτερη τάση σύνδεσης παρουσιάζει ο Cu έναντι του Zn· αυτό εξηγεί γιατί μέτρια επίπεδα μεταλλοθειονίνης στο βλεννογόνο του εντέρου προκαλούν μείωση της απορρόφησης του Cu πριν μειωθεί η απορρόφηση του Zn. Έτσι γίνεται κατανοητό πώς ένα μέρος της αλληλεπίδρασης Cu – Zn λαμβάνει χώρα καθώς αυτά διαπερνούν το εντερικό κύτταρο για να μεταφερθούν στο πλάσμα. Ο λόγος της συγκέντρωσης Cu προς τη συγκέντρωση Zn έχει κλινική σπουδαιότητα κατά τη χορήγηση δόσεων αυτών των μετάλλων (Werman MJ. et al., 1992).

2.1.3 Μεταφορά Cu στο πλάσμα

Η κύρια πρωτεΐνη μεταφοράς Cu στο ήπαρ είναι η λευκωματίνη, στην οποία ο Cu συνδέεται αρκετά χαλαρά στο αμινοτελικό άκρο, στο Νιμιδαζολικού δακτυλίου της ιστιδίνης στη θέση 3 και με άλλα πεπτιδικά άζωτα. Οι θέσεις σύνδεσης του Cu στο μόριο της λευκωματίνης δεν είναι κοινές, συνεπώς δεν υπάρχει ανταγωνισμός και από άλλα μέταλλα (Henkin RJ., 1974, Simkin PA., 1976).

Το 96% του Cu που κυκλοφορεί στο αίμα των θηλαστικών βρίσκεται υπό τη μορφή της σερουλοπλασμίνης (συντίθεται στο ήπαρ). Φαίνεται ότι η σερουλοπλασμίνη δρα ως πρωτεΐνη μεταφοράς και ότι ο χαλκός της ενσωματώνεται στην οξειδάση του κυτοχρώματος και σε άλλα ένζυμα. Λόγω της μεγάλης συγκέντρωσης Cu στην πρωτεΐνη αυτή, ο ανταγωνισμός μεταξύ Cu και Zn είναι αμελητέος. Μια ποσότητα Cu μεταφέρεται επίσης από την αλβουμίνη όπου είναι ο κύριος μεταφορέας Cu στο αίμα της πυλαίας φλέβας μεταξύ εντέρου και ήπατος. Τα σύμπλοκα Cu με αμινοξέα παίζουν επίσης ρόλο στη μεταφορά του (Hay R. 1987).

Ο χαλκός που είναι συνδεδεμένος με την αλβουμίνη του ανθρώπινου ορού θεωρείται ως η μεταφερόμενη με το αίμα μορφή του Cu^{+2} (Guyton, 1998).

Μικρότερη αποθήκευση Cu στο πλάσμα γίνεται στη λευκωματίνη και τα αμινοξέα στα οποία ο Cu είναι συνδεδεμένος χαλαρά και αποτελεί την κύρια πηγή Cu των ηπατοκυττάρων. Ο Cu που προέρχεται από τη λευκωματίνη μετακινείται εύκολα από το πλάσμα προς τους ιστούς ενώ δεν συμβαίνει το ίδιο με τον Cu από τη σερουλοπλασμίνη. Η σερουλοπλασμίνη έχει καθιερωθεί σαν μια πρωτεΐνη οξείας φάσης, συνεπώς κατά τη διάρκεια αλλαγών των φυσιολογικών καταστάσεων, η έκκρισή της στο πλάσμα μπορεί να αυξηθεί (Marceau N., 1972, Vezyraki P. et al., 1999).

Η πορεία της πρόσληψης του Cu έχει ως εξής: στις πρώτες 12 ώρες έχουμε μια αργή – γραμμική φάση συσσώρευσης και στη συνέχεια μια σταθερή ροή πρόσληψης – απέκκρισης Cu έτσι ώστε να υπάρχει μια εξισορρόπηση στις δεξαμενές ανταλλαγής. Ορισμένοι ερευνητές παρατήρησαν ότι υπάρχει σημαντική πρόσληψη Cu σε διάφορες θερμοκρασίες ενώ έχει αναφερθεί ότι ο χαλκός και ο ψευδάργυρος είναι αμοιβαία ανταγωνιστικοί κατά τη λειτουργία της πρόσληψης (Weiner AL., 1983).

Ορισμένες ορμόνες όπως π.χ. η αδρεναλίνη και η γλουκαγόνη φαίνεται να διεγείρουν τη συσσώρευση του Cu σε καλλιέργειες παρεγχυματικών κυττάρων. Ορισμένοι ερευνητές συμπέραναν ότι η ορμονική ρύθμιση του μεταβολισμού του Cu είναι παρόμοια με τους μηχανισμούς που επηρεάζουν τη μεταφορά αμινοξέων καθώς και την ενδοκυττάρια ανακατανομή του ασβεστίου (Morgan NG., 1970).

2.2 ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΣ (Zn)

2.2.1 Βιολογικός ρόλος Zn

Ο ψευδάργυρος είναι το δεύτερο, μετά το σίδηρο, μεταλλικό στοιχείο σε αφθονία στον ανθρώπινο οργανισμό. Ο Zn συμμετέχει στα βιολογικά συστήματα ως δισθενές κατιόν (Zn^{+2}) ενώ τα σύμπλοκα που σχηματίζει είναι: ανιονικά, κατιοντικά, ουδέτερα και άλλα. Τα περισσότερα σύμπλοκά του είναι τετραεδρικά (Τσαγκάρης I., 1980). Τα σύμπλοκα του Zn παρέχουν ικανοποιητικά ρυθμιστικά διαλύματα γι' αυτό και χρησιμοποιούνται για τη ρύθμιση του pH in vivo. Η ευρεία χρησιμοποίηση του Zn^{+2} στα περισσότερα μεταλλοένζυμα οφείλεται στο ότι είναι ένα ιδιαίτερα σκληρό οξύ (κατά Lewis) και αντιδρά έντονα με άτομα δότες, με το οξυγόνο και το άζωτο.

Ο Zn είναι απαραίτητος για την ομαλή αύξηση και ανάπτυξη των θηλαστικών και υπάρχει σε ποσότητα 1.3 - 2.3 gr στο ανθρώπινο σώμα. Η οδός απορρόφησης του Zn της διαίτας, είναι μέσω του λεπτού εντέρου και είναι της τάξεως των 15 mg/ ημέρα.

Οι βιολογικές χρησιμότητες του Zn είναι πολλές και μπορούν να ταξινομηθούν ως εξής (Werman M., 1992):

- Υπάρχει σαν συνένζυμο σε περισσότερα από 200 ένζυμα.
- Η DNA πολυμεράση και η RNA πολυμεράση είναι και οι δύο μεταλλοένζυμα του Zn και επίσης αναπόσπαστα συστατικά του μεταβολισμού των νουκλεϊκών οξέων.
- Ο Zn είναι απαραίτητος για τη δομή-κατασκευή των νουκλεϊκών οξέων.
- Ο ριβονουκλεϊκός καταβολισμός των νουκλεϊκών οξέων αναστέλλεται από τον Zn.
- Ο Zn είναι στενά συνδεδεμένος με την πρωτεϊνοσύνθεση και είναι απαραίτητος για τη φυσιολογική χρησιμοποίηση των αμινοξέων.
- Οι περισσότερες φάσεις της κυτταρικής διαίρεσης απαιτούν Zn.

2.2.2 Ο προστατευτικός ρόλος του Zn στο κύτταρο

Ο Zn έχει σταθεροποιητική δράση στα κύτταρα και έχει δείχθει ότι η είσοδος μέσω της διαίτας αυξημένης ποσότητας Zn, αυξάνει την ωσμωτική αντίσταση των κυττάρων λόγω της αλληλεπίδρασης με τον Cu. Συμμετέχει σε διάφορα μεμβρανικά συστήματα όπως των αιμοπεταλίων, των μαστοκυττάρων των μακροφάγων, των μικροσωληνίσκων του εγκεφάλου, των σπειραματικών κυττάρων, των λευκών αιμοσφαιρίων, των σκελετικών μυών, του λεπτού εντέρου, των ηπατικών

λυσοσωμάτων και των νεφρών (Chvapil M., 1976, Bettger W. et al., 1981, Akrida K. et al., 1985, Kalfakakou V. et al., 1986).

Η είσοδος και η έξοδος του Zn από τα κύτταρα και τους ιστούς ελέγχεται από πολύ αποτελεσματικούς μηχανισμούς ομοιόστασης τέτοιους, ώστε να μην έχουν αναφερθεί προβλήματα από τυχόν υπερβολική συσσώρευση Zn όπως συμβαίνει για παράδειγμα με τα Fe, Cu, Hg, Cd, Pb κ.α. Οι φυσικές και χημικές του ιδιότητες (όπως έχουμε αναφέρει και παραπάνω) σε συνδυασμό με τις σταθερές συνδέσεις του με μακρομόρια και τη σπουδαία ευελιξία του, τον καθιστούν ισχυρά προσαρμοσμένο ώστε να ικανοποιεί τις ανάγκες των πρωτεϊνών και των ενζύμων που εκτελούν διάφορες βιολογικές λειτουργίες. Η έλλειψη της οξειδωσής του, παρέχει σταθερότητα στα βιολογικά υλικά και πιστεύεται ότι τα κανονικά κύτταρα δεν διαιρούνται αν δεν υπάρχουν οι επαρκείς συγκεντρώσεις Zn στις κατάλληλες θέσεις (Issaq HJ., 1985).

Ο Zn συναντάται στα μεταλλοένζυμα, καρβοξυπεπτιδάση και καρβονική ανυδράση ενώ διάφορα μεταλλοένζυμα του Zn (καταλάση, υπεροξειδάσες και διμουτάση του υπεροξειδίου) καθώς και παράγωγα που προέρχονται από την αντιοξειδωτική βιταμίνη E, αναστέλλουν την οξειδωση από τις ελεύθερες ρίζες με καταλύτη Fe. Κοτόπουλα με χαμηλή διαίτα σε Zn, έλαβαν περίσσεια Zn με αποτέλεσμα να μειωθούν οι δερματικές και οι συγγενείς ανωμαλίες αλλά δεν μεταβλήθηκε ο μειωμένος ρυθμός ανάπτυξης των ζώων. Επιβεβαιώθηκε η υπόθεση ότι ο Zn έχει έναν ανάλογο με της βιταμίνης E βιοχημικό ρόλο, σταθεροποιώντας την κατασκευή της μεμβράνης και μειώνοντας έτσι την υπεροξειδωτική βλάβη στο κύτταρο (Issaq HJ., 1985).

Ο Zn που βρίσκεται στη μεμβράνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων φαίνεται να παίζει σπουδαίο ρόλο στη σταθεροποίησή της έχοντας προστατευτική δράση όπως το Ca^{+2} . Ο Zn^{+2} είναι δυνατόν να εκτοπιστεί από το Cu^{+2} ο οποίος καταλαμβάνει τις ίδιες θέσεις σύνδεσης στην κυτταρική μεμβράνη. Η σύνδεση και η αποσύνδεση του Zn^{+2} στη μεμβράνη είναι γρήγορη και αντιστρεπτή διαδικασία βάσει της δυναμικής ισορροπίας που διακρίνει την αντίδραση. Περίσσεια Zn^{+2} είναι δυνατό να αναστέλλει το Ca^{+2} και διεγείρει μια μεγάλη ποικιλία κυττάρων. Αύξηση της συγκέντρωσης του Zn μπορεί να επηρεάσει τις συγκεντρώσεις των άλλων μετάλλων π.χ. Cu, Se και κατά συνέπεια μπορεί να προκληθούν βλάβες, ενώ η έλλειψη Zn δυσχεραίνει την αντιγραφή των κυττάρων και αναστέλλει ορισμένους αντικαρκινικούς παράγοντες (Wetman M., 1992).

2.2.3 Πρωτείνες - ένζυμα του Zn

Ένα αρκετά μεγάλο ποσοστό του Zn (περίπου 50%) υπάρχει στο κυτταρόπλασμα και στα οργανίδια του, ενώ ένα μικρότερο ποσοστό (30 - 40%) είναι στους πυρήνες και το υπόλοιπο ποσοστό βρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη και τα τοιχώματα. Ο Zn είναι συνδεδεμένος με μακρομόρια κυρίως με ψευδαργυρούχες πρωτείνες, ένζυμα ή νουκλεοτίδια RNA και DNA. Έτσι φαίνεται να υπάρχει ένα ρυθμιστικό σύστημα εντός του κυττάρου το οποίο αποθηκεύει, μεταφέρει και μεταβιβάζει Zn από έναν τύπο μακρομορίου σε άλλους. Δύο από τα συστατικά αυτής της αλυσίδας είναι η θειονίνη και η μεταλλοθειονίνη (Donaldson PJ. et al., 1989).

Από τις βασικότερες πρωτείνες που εμπλέκεται ο Zn είναι οι μεταλλοθειονίνες, όπου η επαγωγή τους είναι άμεσα εξαρτώμενη από τα βαρέα μέταλλα και τις ορμόνες. Περισσότερο έχουν μελετηθεί αυτές που έχουν απομονωθεί από το ήπαρ, το νεφρό και το έντερο. Η σύνδεση ψευδαργύρου και χαλκού κάτω από φυσιολογικές συνθήκες δείχνει ότι οι πρωτείνες αυτές συμμετέχουν στο μεταβολισμό και των δύο αυτών μετάλλων (Riordan JR. et al., 1988). Άλλοι ερευνητές έδειξαν ότι οι μεταλλοθειονίνες

επάγονται από τον χαλκό, το κάδμιο, τον υδράργυρο και τον ψευδάργυρο. Επίσης, πειράματα *in vivo* έδειξαν ότι η αναγωγή Cu^{+2} σε Cu^{+1} παρουσία γλουταθειόνης οδηγεί σε αντικατάσταση του Zn από τον Cu στην Zn- μεταλλοθειονίνη (Bremner I. et al., 1987). Φαίνεται ότι ο Cu^{+2} καθώς και άλλα μέταλλα αντικαθιστούν τον Zn^{+2} στην υπάρχουσα μεταλλοθειονίνη και στη συνέχεια ο απελευθερούμενος Zn^{+2} ενεργοποιεί το γονίδιο παραγωγής της μεταλλοθειονίνης.

Μεταβολή της προσλήψης Zn μέσω της διαίτας μπορεί να προκαλέσει αλλαγή στη συγκέντρωση των μεταλλοθειονινών, για παράδειγμα, η έλλειψη Zn σε επίμυες οδηγεί σε πολύ μικρά επίπεδα τις μεταλλοθειονίνες του ήπατος και του εντέρου. ενώ αντίθετα ο εμπλουτισμός της διαίτας σε ψευδάργυρο προκαλεί αύξηση των επιπέδων των μεταλλοθειονινών και στα δύο όργανα (Vallee BL., 1993, Richards MP., 1976).

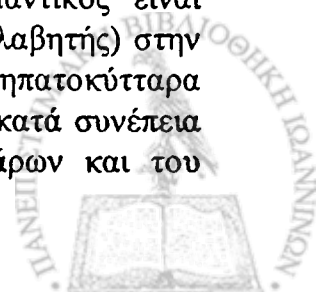
2.2.4 Απορρόφηση και μεταφορά του Zn

• Για τους ενήλικες ο μέσος όρος απαιτούμενου Zn είναι 10 – 15 mg/ημέρα και αυξάνεται σε 20 - 25 mg/ημέρα κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης (Prasad AS., 1983). Η απορρόφηση του Zn γίνεται από τη νήστιδα και τον ευλό και μπορεί να έχουμε επαγωγή της απορρόφησης του Zn παρουσία γλυκόζης στον εντερικό σωλήνα, ενώ με την παρουσία Ca, φυτικού οξέος και άλλων συστατικών έχουμε επιβράδυνση της απορρόφησης Zn. Ο Zn όσο και ο Cu έχουν κοινές θέσεις πρόσληψης στην παρυφή της ψηκτροειδούς μεμβράνης γι' αυτό και η συγκέντρωση του ενός επηρεάζει τη συγκέντρωση του άλλου. Η απορρόφηση του Zn πιστεύεται ότι γίνεται τόσο με παθητική διάχυση όσο και με τη συμμετοχή φορέων και αυξάνει ανάλογα με τις ανάγκες του οργανισμού (Hoadley JE. et al., 1987).

Η απορρόφηση του Zn θεωρείται ότι ρυθμίζεται από ένα μηχανισμό *feed back* (ανάδρασης). Σε λήψη τροφής με χαμηλή περιεκτικότητα σε Zn, το μεγαλύτερο ποσοστό του απορροφάται από το έντερο και μεταφέρεται απ' ευθείας στο αίμα. Σε δίαιτες με υψηλή περιεκτικότητα σε Zn, έχουμε αύξηση στην παραγωγή μεταλλοθειονινών των εντερικών κυττάρων, οι οποίες δεσμεύουν ένα μεγάλο ποσοστό Zn και ελαττώνουν έτσι τον Zn που μεταφέρεται στο πλάσμα. Καθώς ο Zn του πλάσματος μειώνεται, έχουμε μείωση της διέγερσης της σύνθεσης της μεταλλοθειονίνης και έτσι το κλάσμα του απορροφούμενου Zn που είναι διαθέσιμο για μεταφορά στην κυκλοφορία αυξάνει (Vallee BL, 1993, Song MK., 1989).

Οι τιμές του Zn του πλάσματος είναι περίπου 100μgZn/100ml πλάσματος αντιπροσωπεύει περίπου το 1% του ολικού ψευδαργύρου του σώματος και είναι συνδεδεμένος κύρια με την α_2 - μακροσφαιρίνη και τη λευκοματίνη ενώ υπάρχει σε μικρότερο ποσοστό συνδεδεμένος με κυστεΐνη και ιστιδίνη, αμινοξέα που επηρεάζουν σημαντικά τη μεταφορά Zn. Από το ολικό ποσοστό του Zn του αίματος μόνο το 10 – 20% βρίσκεται στο πλάσμα ενώ το υπόλοιπο είναι στα ερυθροκύτταρα και είναι συνδεδεμένο με τα ένζυμα καρβονική ανυδράση, δισμουτάση του υπεροξειδίου, και της αφυδατάσης του δ-αμινολεβουλινικού οξέος (Ohno H. et al., 1985, Brewer GJ. et al., 1979).

Η πρόσληψη Zn από το ήπαρ ενισχύεται από τα κορτικοστεροειδή, τα οιστρογόνα, την ACTH (φλοιοεπινεφριδιοτρόπος ορμόνη) ενώ σημαντικός είναι επίσης ο ρόλος του παράγοντα LEM (λευκοκυτταρικός ενδογενής μεσολαβητής) στην απορρόφηση του Zn από τα ηπατοκύτταρα. Η δράση του LEM στα ηπατοκύτταρα εξαρτάται από την παρουσία γλυκοκορτικοειδών των επινεφριδίων και κατά συνέπεια επηρεάζει τη σύνθεση των πρωτεϊνών του πυρήνα των ηπατοκυττάρων και του εγδοπλάσματος (Chvaril M., 1976).



2.2.5 Μεταβολισμός και απέκκριση του Zn

Η μεταφορά του Zn γίνεται μέσω της πυλαίας φλέβας και από εκεί σε όλους τους ιστούς. Μεγάλες συγκεντρώσεις Zn απαντώνται στο ήπαρ χωρίς όμως αυτό να λειτουργεί ως αποθήκη (όπως στην περίπτωση του Fe). Μεγάλο μέρος του μεταβολισμού του Zn γίνεται στο ήπαρ όπου ο Zn ενώνεται με μεταλλοθειονίνες και φτάνει στους νεφρούς, το πάγκρεας και σε όλους του ιστούς (Falchuk KH., 1991).

Ανωμαλίες στο μεταβολισμό του Zn συμβαίνουν σε ασθενείς με κίρρωση ήπατος ή με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου. Η έλλειψη Zn σχετίζεται με ανωμαλίες στην ανάπτυξη των εμβρύων, μειωμένη επούλωση των πληγών και μειωμένη ικανότητα γεύσης και όσφρησης. Οι επίμυες που σιτίζονται με τροφή η οποία έχει χαμηλή συγκέντρωση Zn, παρουσιάζουν και μειωμένα επίπεδα βιταμίνης A στο πλάσμα. Κάποιοι ερευνητές συσχετίζουν την έλλειψη Zn με υπογοναδισμό, νανισμό, αναιμία και ηπατοσπληνομεγαλία. Επίσης οι θήλειες επίμυες με μεγάλη έλλειψη Zn εμφανίζουν σημαντικό πρόβλημα στην αναπαραγωγή τους (Prasad AS., 1985, Werman MJ. et al., 1992).

Ο Zn απεκκρίνεται μέσω της γαστρεντερικής οδού κυρίως με τη μορφή των παγκρεατικών και χολικών απεκκρίσεων και είναι της τάξεως των 2 – 5 mg/ημέρα. Μια άλλη σημαντική οδός απομάκρυνσης Zn είναι τα ούρα, όπου χάνονται περίπου 500 – 800 µg Zn/ημέρα. Αρκετά μεγάλο ποσοστό Zn επίσης χάνεται από τον ιδρώτα καθώς και μέσω της απόπτωσης των κυττάρων του δέρματος. Αυξημένη απέκκριση Zn μέσω ούρων παρατηρείται σε ομάδες καρκινοπαθών και μπορεί να οφείλονται σε υπερμεταβολικές ή καταβολικές καταστάσεις. Άλλες αιτίες απώλειας Zn είναι: ασθένειες ήπατος, διαβήτης, ασθένειες του νεφρού, ολική παρεντερική θρέψη, διουρητικά φάρμακα, καθώς και χημιοθεραπευτικές ουσίες κατά του καρκίνου (Endre L. et al., 1990).

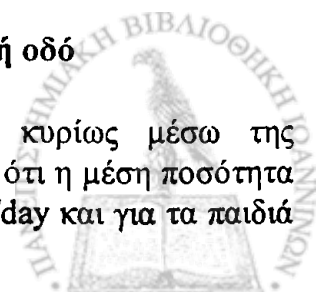
2.3 ΜΟΛΥΒΔΟΣ(Pb)

2.3.1 Γενικά - πηγές προέλευσης Pb

Ο Pb απαντάται στο πετρέλαιο, στα χρώματα, τα γυάλινα δοχεία και στις συγκολλήσεις των σωληνώσεων και πολλές άλλες πηγές βιομηχανικής προέλευσης. Ο τετρααιθυλιούχος Pb (TEL), ο τετραμεθυλιούχος Pb (TML) και τα μεικτά αλκυλιωμένα παράγωγά του, χρησιμοποιούνται ως αντικροτικά πρόσθετα για τη βελτίωση των αποτελεσμάτων της καύσεως της βενζίνης. Έχουν αναφερθεί επίσης θετικές συσχετίσεις μεταξύ του περιεχομένου Pb στα εδάφη και στη σκόνη με τα επίπεδα Pb στο αίμα, ενώ επίσης τα παλιά χρώματα των τοίχων είναι σημαντική πηγή Pb της ατμοσφαιρικής σκόνης. Σε διάφορες περιοχές όπου χρησιμοποιούνται ακόμη οικιακές υδραυλικές εγκαταστάσεις από Pb και το νερό είναι μαλακό, έχει αποδειχθεί ότι η ημερήσια πρόσληψη Pb από έναν ενήλικα φτάνει τα αρκετά µg Pb/ημέρα (Fergusson J., 1990).

2.3.2 Απορρόφηση του Pb από την γαστρεντερική οδό

Η απορρόφηση του Pb από τον άνθρωπο γίνεται κυρίως μέσω της γαστρεντερικής αλλά και της αναπνευστικής οδού. Έχει εκτιμηθεί ότι η μέση ποσότητα Pb που λαμβάνεται από τους ενήλικες είναι περίπου 120 - 150 µg/day και για τα παιδιά



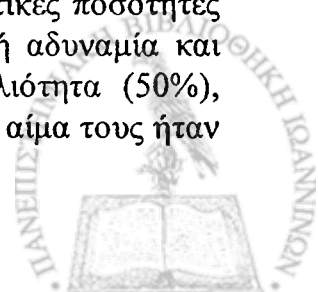
είναι 40 - 60 μg/day αλλά φαίνεται να υπάρχει μια γενικότερη τάση μείωσης της ποσότητας του Pb που λαμβάνεται καθημερινά κι αυτό λόγω της μείωσής του στη χρήση συσκευασιών τροφίμων που περιέχουν Pb (κουτιά κονσερβών, γάλατος κ.α.) καθώς και μείωσης αρκετών άλλων πηγών εισόδου Pb. Η ελάττωση του Pb στο πετρέλαιο και συνεπώς στην τέφρα που παράγεται από την καύση του πετρελαίου και η οποία διοχετεύεται στην ατμόσφαιρα έχει συμβάλει καθοριστικά στη μεγάλη μείωση του Pb. Η παγκόσμια οργάνωση υγείας (FAO/WHO) έχει καθορίσει ως καθημερινό επιτρεπτό όριο λήψης Pb μέσω της τροφής και του νερού τα 430 μg/day για τους ενήλικες και τα 300 μg/day για τα παιδιά.

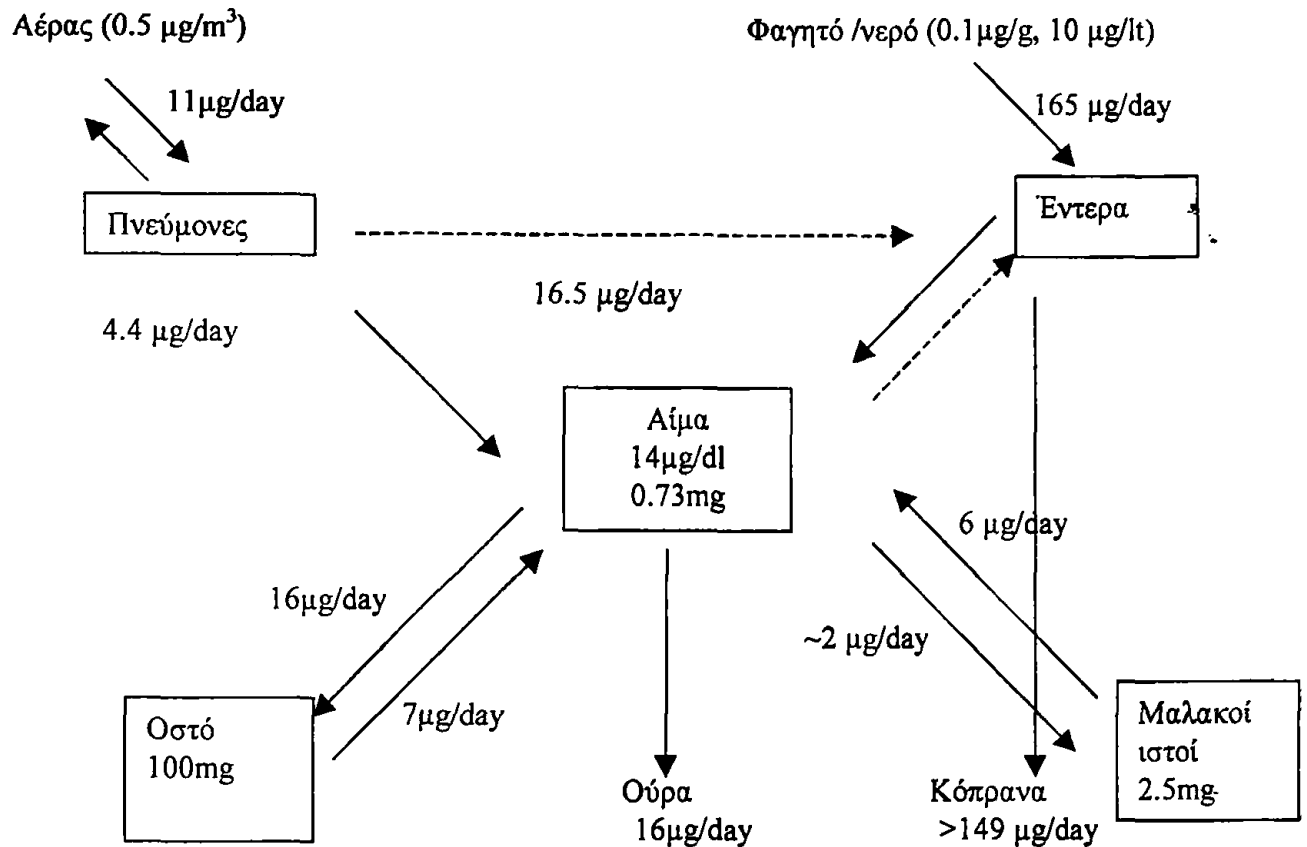
Ο παράγοντας απορρόφησης του Pb από τη γαστρεντερική οδό στο αιμοποιητικό σύστημα, για τους ενήλικες, είναι περίπου 0.1 και εξαρτάται από την ηλικία του ατόμου καθώς και την κατάχρηση προϊόντων που περιέχουν Pb, ενώ για τα παιδιά ο αντίστοιχος συντελεστής συσσώρευσης είναι περίπου 0.5. Έτσι γίνεται φανερό πως τα παιδιά απορροφούν περισσότερο Pb στο σώμα τους παρόλο που λαμβάνουν μικρότερη ποσότητα. Μια άλλη σημαντική πηγή εισόδου Pb είναι το κάπνισμα με το οποίο εισάγεται στον οργανισμό περίπου 0.5-0.8 μg Pb ανά τσιγάρο (Fergusson JE., 1990).

2.3.3 Κατανομή του Pb στο σώμα - τοξικότητα

Ο απορροφούμενος Pb κατανέμεται σε ολόκληρο το σώμα μέσω του κυκλοφορικού και στη συνέχεια αποβάλλεται κυρίως με τα ούρα. Στους ενήλικες η κατακράτηση είναι 6 - 33 μg/ημέρα. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις Pb βρίσκονται στην αορτή, το ήπαρ και τους νεφρούς (εικ. 2). Μέχρι σήμερα κανένας επωφελής βιολογικά ρόλος του Pb δεν έχει αποδειχθεί και δεν υπάρχουν ουσιαστικές ενδείξεις ότι αποτελεί απαραίτητο ιχνοστοιχείο. Μεγάλες ποσότητες Pb του σώματος σχετίζονται με βλάβες στη λειτουργία του θυρεοειδή στα ζώα και τον άνθρωπο. Στους επίμυες μεγάλες ποσότητες Pb επηρεάζουν τη λειτουργία του πρόσθιου λοβού της υπόφυσης με επιβράδυνση της δέσμευσης του I^{131} και μετατροπή σε δεσμευμένο με πρωτεΐνη ιώδιο. Τελικά ο υπερβολικός Pb επιδρά βλαβερά και στην υπόφυση αλλά και στο θυρεοειδικό αδένα με συνέπεια βλάβη του θυρεοειδή. Υπερβολική εισροή Pb μέσω του πεπτικού συστήματος στους ανθρώπους (που έπιναν κυρίως λαθραίο ουϊσκι) είχε σαν αποτέλεσμα παθολογικές αλλαγές στα επινεφρίδια. Επίσης έχει αναφερθεί ότι υπερβολικά επίπεδα Pb του σώματος έχουν σχέση με ανωμαλίες στη λειτουργία των γονάδων (Henkin R I., 1976).

Έχουν αναφερθεί επιπτώσεις του Pb στην αναπαραγωγική διαδικασία και επίσης πρόκληση τοξικότητας σε ορισμένα λειτουργικά και νευρολογικά συστήματα του οργανισμού. Τα κύρια όργανα - συστήματα στόχοι του Pb είναι το αιμοποιητικό και ο εγκέφαλος. Η οξεία και άμεση τοξικότητα του Pb προκαλεί: ναυτία, εμετό, κοιλιακούς πόνους, ανορεξία, αναιμία, δυσφορία, δυσκοιλιότητα, αϋπνία. Σαν επιδράσεις στο νευρολογικό σύστημα από οξεία τοξικότητα Pb έχουν αναφερθεί ανησυχία, υπερδιέγερση, σύγχυση, αταξία στη μνήμη ακόμη και κώμα ή θάνατος. Σε μια ομάδα εργατών που εκτίθονταν σε εργασιακή ρύπανση σε Pb (κοπή σωλήνων εμποτισμένων με βαφή που περιέχει Pb) και οι οποίοι δεχόταν σημαντικές ποσότητες Pb, μέσω της αναπνοής και της κατάποσης, εμφανίστηκε υπερβολική αδυναμία και κούραση (100%), αναιμία (90%), ασυνήθεις πόνοι (80%), δυσκοιλιότητα (50%), πλευριτικοί πόνοι (50%) και ανορεξία (50%). Επίσης τα επίπεδα Pb στο αίμα τους ήταν πολύ υψηλά 104 - 139 μg/dl (Fell GS., 1984, Johnson FM., 1998).





Εικ. 2: Η κατανομή του Pb στο ανθρώπινο σώμα

2.3.4 Βιοχημική επίδραση του Pb

Μια από τις σημαντικότερες επιδράσεις του Pb είναι η αναστολή της βιοσύνθεσης της αίμης (της σιδηροπορφυρίνης που είναι συστατικό της αιμογλοβίνης). Κατά το σχηματισμό της αίμης υπάρχουν πέντε (5) θέσεις πιθανής παρεμβολής του Pb εκ των οποίων δύο έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλουν τη βιοσύνθεσή της. Το ένζυμο αφυδατάση του δ-αμινολεβουλινικού οξέος (ALAD) είναι πολύ ευαίσθητο στην αναστολή από Pb, με αποτέλεσμα την εμφάνιση στα ούρα και στον ορό του δ-αμινολεβουλινικού οξέος (ALA) και την συσσώρευση του (ALAD) στον ορό. Η εμφάνιση αυτού του ενζύμου στα ούρα, δεν σημαίνει τοξικότητα μόνο από τον Pb, καθώς ανιχνεύεται όταν τα ποσοστά των μετάλλων στο αίμα είναι αρκετά υψηλά περίπου $30 - 40 \mu\text{g}/\text{dl}$. Η αυξημένη δράση του ενζύμου ALAD θεωρείται ως μια παρεμβολή του Pb στη φυσική διεργασία πράγμα που σημαίνει βλάβη στην υγεία, πιστεύεται ότι εμπλέκεται σε νευρο-τοξικές διαταραχές καθώς και στο εσωτερικό του εγκεφάλου (Johnson FM., 1998).

Ο παρακάτω πίνακας δείχνει τις επιδράσεις του Pb στους ενήλικες και τα παιδιά (πιν. 6).



Πιν. 6: Επιπτώσεις στον οργανισμό από τις συγκεντρώσεις Pb στο αίμα (Fergusson J., 1990).

| Pb στο αίμα (μg/dl) | Επιδράσεις |
|---------------------|--|
| 4 - 6 | Αναστολή του ενζύμου ALAD |
| 15 | Αύξηση της πορφυρίνης των ερυθροκυττάρων του αίματος |
| 20 - 25 | Χρωμοσωμικές ανωμαλίες |
| 30 | Τοξικότητα στα έμβρυα |
| 30 - 40 | Μειωμένη γονιμότητα στις γυναίκες |
| 30 - 40 | Αλλαγές στην σπερματογένεση των ανδρών |
| 40 | Μειωμένη περιφερική νευροδιαβίβαση |
| 40 | Μειωμένη σύνθεση της αιμογλοβίνης |
| 40 - 60 | Ψυχολογικές επιδράσεις και αλλαγές στη συμπεριφορά |
| 50 | Δυσλειτουργίες στο νεφρό |
| >50 | Αναιμία |
| 50 - 60 | Περιφερική νευροπάθεια |
| 100 - 120 | Εγκεφαλοπάθεια |

Μια άλλη επίδραση του Pb είναι η αναστολή της σιδηροχηλικάσης (ferrochelatase) ένα ένζυμο που επιτρέπει στο ιόν Fe^{+2} να ενσωματώνεται στην πρωτοπορφυρίνη IX, με αποτέλεσμα η πρωτοπορφυρίνη IX να συσσωρεύεται στα ερυθροκύτταρα. Ο σίδηρος (Fe^{+2}) που δεν ενσωματώνεται στην πρωτοπορφυρίνη συσσωρεύεται στο αίμα (π.χ. φερριτίνη) καθώς και σε ιστούς που συσσωρεύουν σίδηρο. Η εμφάνιση της πρωτοπορφυρίνης των ερυθροκυττάρων στο αίμα θεωρείται ότι είναι από τα πρώτα συμπτώματα της παρεμβολής του Pb και φανερώνει βλάβες σε ορισμένες λειτουργίες των μιτοχονδρίων (Fell GS., 1984).

Ο Pb επιδρά και στο νεφρικό σύστημα με εμφάνιση αρχικών βλαβών στο περιφερικό σωληναριακό σύστημα προκαλώντας μείωση στην επαναπορρόφηση της γλυκόζης και των α - αμινοξέων και την εμφάνιση αυτών των ουσιών στα ούρα. Τα τελικά συμπτώματα που εμφανίζονται είναι αμινοξυουρία, γλυκοζουρία, υπερφωσφατουρία, και επίσης υπερφωσφαταιμία. Επίσης μπορεί να αναπτυχθεί χρόνια νεφροπάθεια λόγω Pb όταν οι λειτουργίες του νεφρού συνδυάζονται με ατροφία των σπειραμάτων. Τα φαινόμενα αυτά εμφανίζονται κυρίως σε ανθρώπους που εκτίθενται σε επαγγελματική ρύπανση σε Pb, ή σε άτομα που έχουν καταναλώσει Pb από 'μη αναμενόμενες' πηγές όπως από πόσιμα υγρά που είναι αποθηκευμένα σε δοχεία που περιέχουν μόλυβδο (Johnson FM., 1998).

Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις ξαφνικών θανάτων βρεφών καθώς και πρόωρων γεννήσεων λόγω τοξικότητας Pb. Οι αναλύσεις σε αυτά τα βρέφη έδειξαν αυξημένα επίπεδα συγκεντρώσεων Pb στους ιστούς αυτών των βρεφών σε σύγκριση με ιστούς

άλλων βρεφών που πέθαναν από άλλους λόγους. Στις έγκυες γυναίκες οι αυξημένες συγκεντρώσεις Pb αυξάνουν τον κίνδυνο της υπέρτασης και των προβλημάτων στη γέννα (Boeckx RL.,1986).

Επίσης ο Pb ανταγωνίζεται και αλληλεπιδρά με άλλα μέταλλα και μπορεί να προκαλέσει έλλειψη ορισμένων στοιχείων στον οργανισμό (πιν. 7). Ο Pb αποθηκεύεται κυρίως στα οστά και φαίνεται να εκτοπίζεται από το ασβέστιο. Σε κυτταρικό επίπεδο έχει διαπιστωθεί ότι ο Pb σχετίζεται και με τις αναπνευστικές χρωστικές, την παραγωγή ενέργειας και τη λειτουργία των μεμβρανών (Hay R.,1987).

Για την απομάκρυνση Pb από τον οργανισμό χρησιμοποιούνται διάφορες ουσίες που συμπλοκοποιούν τον Pb όπως το άλας CaNa_2EDTA , η 2-3-δυμερκαπτοπροπανόλη, $(\text{HSCH}_2 - \text{C}(\text{SH}) - \text{CH}_2\text{OH})$ και η d-πενικλαμίνη $(\text{HS}-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{CHNH}_2\text{COOH})$ (Fergusson JE.,1990).

Πιν. 7: Αλληλεπιδράσεις του Pb και άλλων στοιχείων στα βιολογικά συστήματα

| Στοιχείο | Επίδραση του Pb |
|----------|---|
| Fe | Ο Pb ανταγωνίζεται με το σίδηρο των εντέρων αναστέλλει τη συμμετοχή του στην πρωτοπορφυρίνη IX και προκαλεί έλλειψη σιδήρου και αναιμία. |
| Ca | Ο Pb αυξάνει την έλλειψη σε ασβέστιο, ενώ το Ca μπορεί να επιδράσει θετικά στην τοξικότητα του Pb, γι' αυτό και στους εργάτες που δουλεύουν σε περιβάλλοντα Pb συνιστάται να πίνουν γάλα. |
| Zn | Ο Pb παρεμβαίνει στα ένζυμα του ψευδαργύρου, και προστιθέμενος Zn μπορεί να δράσει κατά της τοξικότητας του Pb. |
| Cu | Ο Pb αυξάνει την έλλειψη σε χαλκό. |

2.3.5 Νευροτοξικότητα του Pb

Ο Pb είναι γνωστό ότι προκαλεί νευροφυσιολογικές δυσλειτουργίες ιδιαίτερα στα παιδιά με επιπτώσεις στην ευφυΐα, την αντίληψη και τη συμπεριφορά. Ανάλογες και σε μεγαλύτερο βαθμό επιδράσεις απαντώνται και από την έκθεση σε υδράργυρο (Hg) ή κάδμιο (Cd), όμως η τοξικότητα λόγω Pb έχει μεγάλη σημασία λόγω της μεγάλης παραγωγής και χρήσης Pb που γίνεται σε παγκόσμια κλίμακα και κατά συνέπεια της μεγάλης έκθεσης στο μέταλλο. Η (δ-ALAD) που απελευθερώνεται, μέσω της αναστολής της βιοσύνθεσης της αίμης, μπορεί να αποτελέσει έναν αδύναμο ανταγωνιστή του νευροδιαβιβαστή γ - αμινοβουτυρικού οξέος (GABA) $(\text{HO}_2\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2)$, του οποίου η χημική κατασκευή είναι αρκετά παρόμοια με αυτήν του δ- αμινολεβουλινικού οξέος $(\text{HO}_2\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{NH}_2)$. Το GABA είναι ένας πολύ σημαντικός νευροδιαβιβαστής στο φλοιό του εγκεφάλου και ο Pb μπορεί να αναστείλει το μεταβολισμό του. Τόσο το GABA όσο και οι νευροτοξικές επιδράσεις του δ-ALA φαίνεται να σχετίζονται με το stress, το άγχος και την υπερδιέγερση. Σύμφωνα με μελέτες υπάρχει συσχέτιση μεταξύ έκθεσης σε μικρές συγκεντρώσεις Pb και της νευρολογικής λειτουργίας των νεαρών ατόμων. Ο Pb φαίνεται να επηρεάζει το δείκτη ευφυΐας των παιδιών αλλά όχι σε τόσο σημαντικό επίπεδο όσο επηρεάζεται η συμπεριφορά, η συγκέντρωση και η προσοχή (Struzynska L. et al.,1997, Sihgh AK. et al., 1989).

2.4 ΚΑΔΜΙΟ(Cd)

2.4.1 Γενικά - Συγκεντρώσεις Cd στον οργανισμό

Το κάδμιο (Cd) είναι ένα από τα πιο τοξικά μέταλλα και απασχολεί πολύ συχνά τους ερευνητές λόγω της αυξημένης παρουσίας του στο σύγχρονο περιβάλλον. Συσσωρεύεται στον οργανισμό από τα πρώτα στάδια της ζωής, ενώ ο ρυθμός και τα επίπεδα συσσώρευσής του εξαρτώνται από την οδό χορήγησής του. Η είσοδος του Cd στον ανθρώπινο οργανισμό επιδρά σε βασικές λειτουργίες και οργανικά συστήματα, και γίνεται κυρίως μέσω, της λήψης της τροφής και του νερού και με την εισπνοή αέρα που περιέχει σημαντικές ποσότητες Cd. Χρησιμοποιείται κυρίως στις επιμεταλλώσεις, τα χρώματα, τους αλκαλικούς συσσωρευτές και τη μεταλλουργία (Manahan S., 1994).

Η συνολική ποσότητα του Cd που υπάρχει στον ανθρώπινο οργανισμό αυξάνεται με την πάροδο της ηλικίας, ξεκινώντας από χαμηλά επίπεδα στη γέννηση (1 μg) ενώ στην ηλικία των 50 ετών είναι γύρω στα 30 – 40 mg (με την προϋπόθεση ότι τα άτομα δεν είναι εκτεθειμένα σε επαγγελματική ρύπανση Cd). Το εύρος των συγκεντρώσεων που εισέρχονται καθημερινά ποικίλει από 10 – 120 μg/ημέρα. Οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις απαντώνται σε περιοχές με μεγάλη ρύπανση σε Cd όπως η Ιαπωνία. Η μέση αποδεκτή συγκέντρωση παγκοσμίως είναι περίπου 35 μg/ημέρα. Η παγκόσμια οργάνωση υγείας (WHO) έχει προτείνει ως όριο ανοχής σε έκθεση Cd τα 400 – 500 μg ή 57 – 71 μg/ημέρα, πράγμα που σημαίνει ότι ένας μεγάλος αριθμός ανθρώπων είναι κοντά ή πάνω από αυτά τα όρια (Matrisian LM. et al., 1991, Mazus B. et al., 1986).

Η εισροή Cd στον άνθρωπο είναι πολύ μικρότερη του Pb αλλά το Cd είναι πιο τοξικό. Το ολικό κλάσμα του Cd που απορροφάται είναι 0.16 - 0.5 (16 – 50%) και εξαρτάται από την κατανομή και τη διαλυτότητα των ποσοτήτων Cd που αποτίθενται, καθώς και από τα άλλα μέταλλα (Elind CG., 1985).

2.4.2 Απορρόφηση του Cd

Η έλλειψη ασβεστίου και πρωτεϊνών ενισχύει την εντερική απορρόφηση Cd, η οποία επηρεάζεται από διάφορα συστατικά της δίαιτας όπως π.χ. η περιεκτικότητα των τροφών και σε άλλα ιχνοστοιχεία (σίδηρος, ασβέστιο). Η απορρόφηση του Cd λαμβάνει χώρα κατά μήκος του λεπτού εντέρου και με βασικό μηχανισμό τη διάχυση. Μέσω της πυλαίας κυκλοφορίας μεταφέρεται από τα εντερικά κύτταρα στο ήπαρ και από εκεί μέσω της συστηματικής κυκλοφορίας φτάνει σε όλους του ιστούς. Τα κυριότερα όργανα αποθήκευσης του Cd είναι ο νεφρός και το ήπαρ, όπου είναι κύρια συνδεδεμένο με τις μεταλλοθειονίνες. Το Cd παγιδεύεται από τους μαλακούς ιστούς και δεσμεύεται στις πρωτεΐνες που είναι πλούσιες σε θείο(S) όπως οι μεταλλοθειονίνες, που περιέχουν 9% θείο στις κυστεΐνες του μορίου τους (Manahan S., 1994).

Στο αίμα, το Cd είναι σχεδόν πλήρως δεσμευμένο στα ερυθροκύτταρα και ιδιαίτερα στην αιμοσφαιρίνη και τη μεταλλοθειονίνη. Σύμφωνα με μετρήσεις που έχουν γίνει, το Cd στο ολικό αίμα είναι της τάξεως των 2.7 – 8.2 ng/ml και στα ερυθρά είναι 1.2 – 7.5 ng/ml. Καθοριστικό ρόλο παίζουν οι μορφές με τις οποίες είναι συνδεδεμένο το Cd στο πλάσμα, διότι αποτελούν ρυθμιστικούς παράγοντες της κατανομής του στο νεφρό και στο ήπαρ. Έχει βρεθεί ότι στο πλάσμα το Cd είναι ενωμένο με: λευκώματα υψηλού μοριακού βάρους (με τη μορφή αυτή παγιδεύεται κυρίως στο ήπαρ), ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους (με τη μορφή αυτή μεταφέρεται

και προσλαμβάνεται εκλεκτικά από το νεφρό ή απεκκρίνεται άμεσα από τα ούρα) και πολύ μικρή ποσότητα είναι σε ελεύθερη μορφή (Fergusson J., 1990).

Όργανα – στόχοι του Cd είναι οι πνεύμονες, τα νεφρά και τα οστά. Οι συνήθεις αντιδράσεις - συμπτώματα από οξεία έκθεση σε Cd μέσω πόσιμων είναι: σιελόρροια, ναυτία, εμετός, ασυνήθεις πόνοι, διάρροια, ίλιγγος και σε μεγάλες δόσεις απώλεια των αισθήσεων. Η χρόνια έκθεση λόγω εισπνοής ή λόγω πόσης προκαλεί βλάβες στα νεφρά με πρωτεϊνουρία, ενώ είναι γνωστή η περίπτωση στην Ιαπωνία όπου μολυσμένο ρύζι από Cd προκάλεσε μια σοβαρή νόσο (Itai - Itai disease) η οποία χαρακτηρίζεται από συνδυασμό νεφρικής βλάβης και οστεοπόρωσης – οστεομαλακίας.

Οι επιπτώσεις από οξεία εισπνοή αερίων πλούσιων σε Cd είναι βρογχίτιδα, πνευμονίτιδα και ηπατική βλάβη. Επίσης μια δόση $8\text{mg}/\text{m}^3$ αερίου CdO που εισπνέεται για 5 ώρες μπορεί να είναι θανατηφόρα. Μετά από έκθεση 6 μηνών σε ατμοσφαιρικό αέρα πλούσιο σε Cd παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα Cd στα ούρα. Χρόνια εισπνοή αερίων ενώσεων Cd (ατμών ή σκόνης) προκαλεί πνευμονικό εμφύσημα κατά το οποίο οι μικρές κυψελίδες των πνευμόνων καταστρέφονται μειώνοντας έτσι τη χωρητικότητα των πνευμόνων. Το φαινόμενο αυτό γίνεται φανερό μετά από ένα σημαντικό χρονικό διάστημα επαγγελματικής έκθεσης σε Cd. Μία άλλη πηγή αναπνευστικής εισόδου του Cd είναι το κάπνισμα, αφού έχει υπολογιστεί ότι ένας καπνιστής εισπνέει καθημερινά μερικά μg Cd που περιέχονται στον καπνό των τσιγάρων. Σύμφωνα με μελέτες έχει αποδειχθεί ότι οι καπνιστές έχουν υψηλότερες νεφρικές συγκεντρώσεις Cd από αυτές των μη καπνιστών (Polard M. et al., 1986).

2.4.3 Αποθήκευση – τοξικότητα του Cd

Τόσο η χρόνια εισπνοή όσο και η λήψη νερού ή τροφής που περιέχει Cd επηρεάζει κύρια τα νεφρά με πρώτο σύμπτωμα πρωτεϊνουρία, λόγω βλάβης των εγγύς εσπειραμένων σωληναρίων. Η νεφρική βλάβη παρατηρείται αρχικά με την εμφάνιση στα ούρα πρωτεϊνών μικρού μοριακού βάρους (MB:12000-30000) και οφείλεται στη μειωμένη επαναρροφητική λειτουργία των νεφρικών σωληναρίων. Στη συνέχεια παρατηρείται απέκκριση πρωτεϊνών υψηλού μοριακού βάρους όπως της αλβουμίνης, της τρανσφερίνης, ενώ στη συνέχεια η εκτεταμένη βλάβη των νεφρών προκαλεί αμινοοξυουρία, φωσφατουρία, γλυκοζουρία και εμφάνιση ασβεστίου στα ούρα (Fergusson JE., 1990).

Η επίδραση του Cd στα ένζυμα γίνεται κυρίως μέσω αντικατάστασης απαραίτητων ιχνοστοιχείων όπως του Zn, με αποτέλεσμα τα ένζυμα να γίνονται βιολογικά ανενεργά. Το Cd ανταγωνίζεται τον Zn στις θέσεις σύνδεσής του στα ένζυμα και ιδιαίτερα όταν το Cd είναι με την μορφή των ενώσεων του θείου, υπάρχει μεγαλύτερο χημικό πλεονέκτημα να σχηματιστεί ένα πιο ασθενές οξύ απ' ότι ένα ισχυρό όπως με τον Zn (πιν. 8) (Hay R., 1987).

Η καρκινογόνος δράση του Cd έχει αποδειχθεί κυρίως στα πειραματόζωα αλλά έχει βρεθεί σχέση μεταξύ του καρκίνου του προστάτη και της βιομηχανικής έκθεσης Cd. Έχει παρατηρηθεί νέκρωση των όρχεων μετά από χορήγηση Cd σε ζώα, αλλά όχι και στον άνθρωπο (πιν. 9). Οι οξείες επιδράσεις του Cd αυξάνουν όταν το ιόν δεν είναι δεσμευμένο με τη μεταλλοθειονίνη καθώς και με τη χρόνια έκθεση, όταν η ικανότητα της μεταλλοθειονίνης έχει υπερκορεστεί και εμφανίζονται σημαντικές ποσότητες Cd στα ούρα (Danielson BG. et al., 1985, Boronik AS., 1990).

Το Cd είναι γνωστό ότι έχει μεταλλαξιογόνες δράσεις και συγκεκριμένα σε κυτταρικό επίπεδο προκαλεί ρήξεις DNA, χρωμοσωμικές μεταβολές καθώς και αναστολές της κυτταρικής ανάπτυξης. Σε in vitro πειράματα έχει αποδειχθεί ότι

διάφορα ιχνοστοιχεία όπως τα Zn, Mg, Ca ανταγωνίζονται με το Cd στις θέσεις σύνδεσης στο DNA και των ρυθμιστικών πρωτεϊνών, με άμεση συνέπεια στην μεταγραφή των πυρηνικών οξέων. Επίσης το Cd αλλά και ο Zn μπορούν να εμποδίσουν την πρόσληψη Cu στα εντερικά κύτταρα και να προκαλέσουν παγίδευση του απορροφούμενου Cu επάγοντας τη μεταλλοθειονίνη των εντερικών κυττάρων και προκαλώντας μείωση των επιπέδων Cu στο πλάσμα και το ήπαρ. Το Cd φέρεται να προκαλεί μια προ-οξειδωτική κατάσταση και τα στοιχεία που μετέχουν στη δράση του Cd φαίνεται να είναι ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου (Endre L. et al., 1990).

Πιν. 8 .Οι βιοχημικές αλληλεπιδράσεις του Cd με άλλα ιχνοστοιχεία. (Fergusson JE., 1990).

| Στοιχείο | Επίδραση του Cd στο στοιχείο |
|-------------|---|
| Ψευδάργυρος | Το Cd παρεμβαίνει στο μεταβολισμό του, τον αντικαθιστά στα ένζυμα |
| Χαλκός | Το Cd παρεμβαίνει στο μεταβολισμό του, δημιουργεί έλλειψη |
| Σίδηρος | Το Cd παρεμβαίνει στο μεταβολισμό του, δημιουργεί έλλειψη |
| Ασβέστιο | Το Cd παρεμβαίνει στον μεταβολισμό του, δημιουργεί έλλειψη |
| Σελήνιο | Το Se έχει προστατευτικό ρόλο κατά του Cd |
| Μαγγάνιο | Το Mn έχει προστατευτικό ρόλο κατά των μικρών επιπέδων του Cd. |

Άλλη επίδραση του Cd φαίνεται να αφορά την μείωση της παραγωγής της γλουταθειόνης. Η δράση αυτή του Cd συνδέεται με την κυστεΐνη η οποία είναι ένα βασικό λειτουργικό αμινοξύ τόσο της γλουταθειόνης όσο και της μεταλλοθειονίνης. Είναι γνωστός ο μηχανισμός επαγωγής της σύνθεσης της μεταλλοθειονίνης όταν υπάρχει έκθεση σε βαρέα μέταλλα. Η σύνθεση μεταλλοθειονίνης προκαλεί μείωση των συγκεντρώσεων της κυστεΐνης μέσα στο κύτταρο που απαιτείται για τη σύνθεση της γλουταθειόνης. Σύμφωνα με πολλές μελέτες η κυτταρική γλουταθειόνη προστατεύει το κύτταρο από τη ραδιενέργεια, τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου καθώς και αρκετές άλλες τοξικές ενώσεις. Ακόμη η μείωση της γλουταθειόνης είναι δυνατό να έχει και άλλες συνέπειες όπως π.χ. μετάλλαξη και καρκινογένεση. Ελάττωση της ενδοκυττάριας γλουταθειόνης επηρεάζει τη δράση της γλουταθειόνης υπεροξειδάσης (GSH) στην οποία η γλουταθειόνη δρα σαν δότης ηλεκτρονίων. Έτσι μια σημαντική μείωση της γλουταθειόνης είναι ικανή να προκαλέσει μια προοξειδωτική κατάσταση με βλαβερά αποτελέσματα (Goode HF. et al., 1990).

Έρευνες έχουν δείξει ότι συγκεντρώσεις Cd μεταξύ 0.01 - 0.02 mM διεγείρουν την *in vitro* δραστηριότητα της αναγωγάσης (ρεδουκτάσης) του κυτοχρώματος C κατά 40% περίπου, ενώ υψηλές συγκεντρώσεις Cd (1mM) αναστέλλουν αυτό το ένζυμο κατά 30% (Becking GC, 1976).



Πιν. 9: Οι επιδράσεις του Cd στον άνθρωπο (Fergusson JE., 1990).

| Έκθεση | Όργανο | Επιδράσεις | Σχόλια |
|--------|-----------------------|---|--|
| Οξεία | Πνεύμονες | Βρογχίτιδα, πνευμονίτιδα, (δυσνητικά θανατηφόρες) | |
| | Γαστρεντερικό σύστημα | Ναυτία, εμετός, κοιλιακοί πόνοι, γαστρεντερίτιδα, διάρροια, ίλιγγος (δυσνητικά θανατηφόρες) | |
| | Ήπαρ | Τοξαιμία | |
| Χρόνια | Πνεύμονες | Εμφύσημα | |
| | Νεφρά | Πρωτεϊνουρία, αμινοξυουρία, φωσφατουρία, γλυκοζουρία, Cd ⁺² στα ούρα, νεφρόλιθοι | Δυσλειτουργία των νεφρικών σωληναρίων |
| | Οστά | Έντονοι πόνοι, οσφυϊκοί πόνοι, κατάγματα, οστεομαλακία | Αυξημένες ανάγκες σε βιταμίνη D και τροφής |
| | Ένζυμα | Αδρανοποίηση ενζύμων | Αντικατάσταση Zn |
| | Αιμοποιητικό σύστημα | Αναιμία | Το Cd συναγωνίζεται με τον Fe. |
| | Καρδιαγγειακό σύστημα | Υπέρταση | Στα ζώα |
| | Προστατικός αδένας | Καρκίνος | |
| | Σε άλλα μέταλλα | Ανταγωνιστική δράση | ελλείψεις |



3. ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΟΣΥΣΤΗΜΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ

3.1 Ήπαρ

Το ήπαρ δέχεται τις θρεπτικές ουσίες μέσω της πυλαίας φλέβας και λόγω της θέσης του και της λειτουργίας του μπορεί να ρυθμίσει τις συγκεντρώσεις αυτών των ουσιών στο αίμα. Υποβοηθάει την πέψη των λιπών, καθώς και την απομάκρυνση της χολερυθρίνης, των τοξινών κ.λ.π. Εκτός από τον ρόλο του αυτόν, το ήπαρ παίζει και σημαντικότατο ρόλο στο μεταβολισμό των υδατανθράκων, των λιπών των πρωτεϊνών και των ορμονών. Όσον αφορά τα μέταλλα, το ήπαρ μπορεί να ρυθμίζει τις (περιφερειακές) συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων δρώντας ως αποθηκευτής των μετάλλων που προσλαμβάνονται (Guyton, 1998).

3.1.1 Cu - ήπαρ

3.1.1 α Τοξικότητα Cu

Μέρος του Cu της τροφής, που συνδέεται με την αλβουμίνη του πλάσματος και τα αμινοξέα μεταφέρεται στους ιστούς του σώματος, αλλά κυρίως αποθηκεύεται στο ήπαρ, το κύριο όργανο μεταβολισμού του Cu. Η μειωμένη απέκκριση του Cu από το ήπαρ σχετίζεται με τη δυσλειτουργία των λυσοσωμάτων. Η χολική απέκκριση του Cu στους επίμυες αυξάνεται όταν αυξάνει η χολική ροή η θερμοκρασία του σώματος ή η χορήγηση στεροειδών (Sugawara N. et al., 1996).

Η συσσώρευση μεγάλων ποσοτήτων Cu εμποδίζει την κανονική μεταφορά του Cu και τη σύνθεση της πρωτεΐνης του πλάσματος σερούλοπλασμίνης. Οι μικροί μοριακού βάρους πρωτεΐνες των λυσοσωμάτων μπορούν να κατακρατήσουν τον Cu σε μια 'μη αποδεσμευόμενη' μορφή ως ένα συγκεκριμένο επίπεδο οπότε η υποκυτταρική ικανότητα δέσμευσης του στοιχείου υπερκεράζεται και ο Cu απελευθερώνεται από το ήπαρ στην κυκλοφορία. Αυτό ερμηνεύει την αιμόλυση αλλά και τα νεφρικά και εγκεφαλικά συμπτώματα που παρουσιάζονται στην ασθένεια Wilson (πιν. 10). Μπορεί επίσης να προκαλέσει ιστολογικές αλλαγές όπως οξεία και χρόνια ηπατίτιδα και κίρρωση. Η δυσλειτουργία στην ασθένεια Wilson φαίνεται να σχετίζεται με την απέκκριση Cu μέσω των λυσοσωμάτων των ηπατοκυττάρων στη χολή. Ο Cu συσσωρεύεται στο ήπαρ αυτών των ασθενών με την πάροδο της ηλικίας και η συσσώρευση αυτή συνοδεύεται από απόθεση λίπους, νέκρωση κυττάρων, χρώση των ιστών και ίνωση κατά την πορεία προς την κίρρωση. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η εμφάνιση αυτής της ασθένειας είναι αρκετά σπάνια 1:200000. Οι δυσλειτουργίες και οι ανωμαλίες στο ήπαρ γίνονται εντονότερες όσο αυξάνονται τα επίπεδα των τρανσαμινασών.

Πιν. 10: Επίπεδα Cu σε ιστούς ασθενή με ασθένεια Wilson και υγιών ανθρώπων.

| Ιστός | υγιείς(μg/g) | ασθενείς(μg/g) |
|-----------------|--------------|----------------|
| ήπαρ | 12 | 532 |
| νεφρό | 10 | 47 |
| μυς | 5 | 10 |
| νωτιαίος μυελός | 12 | 109 |
| φλοιός | 16 | 327 |
| βασικό γάγγλιο | 25 | 225 |

Η συσσώρευση Cu στο ήπαρ και η αύξηση του Cu του ορού στην αρχική(χολική) κίρρωση είναι δευτερεύοντα φαινόμενα αλλά στα επόμενα στάδια της ασθένειας τοξικές ποσότητες του Cu μπορούν να επιταχύνουν την καταστροφή των ηπατοκυττάρων. Η χηλικοποίηση του Cu μπορεί να μειώσει την αποθήκευσή του στο ήπαρ (Ritland S.,1985).

Σε νεαρές γυναίκες η δυσλειτουργία του ήπατος οδηγεί σε ορμονικές διαταραχές με αποτέλεσμα αρχικά αμηνόρροια, στην προδιάθεση για αυτόματες αποβολές. Κύρια σημεία της νόσου είναι η χρώση του κερατοειδούς (Kayser-Fleischer rings) και συχνά μεγάλη αιμορραγία από τον οισοφάγο.

Η θεραπεία συνίσταται στη χορήγηση χηλικών ενώσεων d - πενικιλλαμίνης ή τριαιθυλενικής τετραμίνης που μπορεί να προκαλέσουν απέκκριση Cu στα ούρα. Τα φάρμακα αυτά φαίνεται να εξουδετερώνουν και τα άλλα συμπτώματα τοξικότητας του Cu, όπως νευρολογικές επιδράσεις, ψυχικές διαταραχές καθώς και την εμφάνιση των δακτυλίων Kayser- Fleischer του κερατοειδούς (Scheinberg H.,1976).

3.1.1.β Έλλειψη Cu

Ο ρόλος κλειδί του ήπατος ως οργάνου παραγωγής πρωτεϊνών του πλάσματος έμμεσα το καθιστά ικανό να επηρεάζει τη μεταφορά και την κατανομή των μετάλλων κυρίως λόγω του ότι η μεγαλύτερη ποσότητα ιχνοστοιχείων κατά τη διακίνησή τους είναι δεσμευμένη με πρωτεΐνες. Το ήπαρ ως παραγωγός της χολής, παίζει βασικό ρόλο στην απέκκριση πολλών ιχνοστοιχείων. Έτσι ασθένειες του ήπατος μπορεί να έχουν σημαντικές επιπτώσεις στο μεταβολισμό των ιχνοστοιχείων.

Πειραματόζωα που τρέφονταν με διαφορετικές δόσεις Cu, Zn και παρά τις επαρκείς συγκεντρώσεις Zn όσα έλαβαν μικρές συγκεντρώσεις Cu παρουσίασαν τα κλασικά συμπτώματα έλλειψης Cu όπως μη ανιχνεύσιμη δραστηριότητα σερουλοπλασμίνης, μειωμένα επίπεδα του αιματοκρίτη, μείωση του βάρους, ατροφία του παγκρέατος και υπερτροφία ήπατος και καρδιάς (Werman M. et al., 1992).

Στους επίμυες που χορηγήθηκε δίαιτα με μειωμένη συγκέντρωση Cu παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της ηπατικής γλουταθειόνης, λόγω επαγωγής της γ - γλουταμυλκυστεϊνικής συνθετάσης (γ-GCS) (Chen Y. et al., 1995). Επίσης η έλλειψη Cu στη δίαιτα είναι γνωστό ότι προκαλεί οξειδωτικό στρες στον οργανισμό των πειραματοζώων και φαίνεται να επηρεάζει αρνητικά την έκφραση αντιοξειδωτικών ενζύμων, ιδιαίτερα της δισμουτάσης του υπεροξειδίου που περιέχει Cu ή Zn, προκαλώντας διαφορετική ρύθμιση της μεταγραφής γονιδίων στο ήπαρ των επίμυων (Lai CC. et al.,1996).

Μια άλλη ηπατική δυσλειτουργία λόγω έλλειψης Cu στη διατροφή είναι η μεγάλη αύξηση της βιοσύνθεσης λιπαρών οξέων. Έχει δείχθει ότι η αύξηση της ηπατικής λιπογένεσης που σχετίζεται με την έλλειψη Cu προκαλείται από την αυξημένη έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με λιπογόνα ένζυμα π.χ. της συνθετάσης του λιπαρού οξέος (FAS) (Wilson J. et al.,1997).

Σε καλλιέργειες ηπατοκυττάρων με ηπάτωμα η μειωμένη συγκέντρωση Cu προκάλεσε αναστολή της ανάπτυξης των κυττάρων, σημαντική αύξηση του περιεχομένου DNA (περίπου 20%) και αναστολή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων. Τα φαινόμενα αυτά συμβάλλουν στην δημιουργία κυττάρων μεγάλης αντοχής στα φάρμακα και στην ενίσχυση της ογκογένεσης σε αυτό το είδος των κυττάρων (Renault E. et al.,1997).



3.1.2 Zn - ήπαρ

3.1.2.α Τοξικότητα Zn

Πολύ λίγες περιπτώσεις στη βιβλιογραφία αναφέρουν πιθανή τοξική δράση στο ήπαρ λόγω εισαγωγής μεγάλων ποσοτήτων Zn στον οργανισμό και αυτό γιατί όπως έχει ήδη αναφερθεί ο οργανισμός έχει την ικανότητα να προσαρμόζεται στις απαιτήσεις σε Zn απεκκρίνοντας ή συγκρατώντας (ανάλογα με την περίπτωση) τις ποσότητες του Zn που χρειάζεται. Αναφέρεται ωστόσο η περίπτωση ενός σχιζοφρενούς ασθενή που μετά την κατάποση μεγάλης ποσότητας νομισμάτων, κατασκευασμένων κύρια από Zn, τα οξέα του στομάχου διέβρωσαν τα νομίσματα και προκάλεσαν απελευθέρωση Zn, με επακόλουθο οξεία μαζική νέκρωση του ήπατος, αιματολογικές βλάβες καθώς και διαταραχές στην απορρόφηση του Cu (Bennett DR et al., 1997).

Έχει αναφερθεί ότι η λήψη μεγάλων ποσοτήτων Zn σχετίζεται με ορισμένες σημαντικές επιπτώσεις όπως αναστολή της σύνθεσης DNA, καθώς και αύξηση της τοξικότητας από τις δραστικές μορφές οξυγόνου. In vitro πειράματα σε ανθρώπινα ηπατοκύτταρα έδειξαν ότι η αυξημένη χορήγηση Zn^{+2} σε αυτά μπορεί να προκαλέσει συρρίκνωση των κυττάρων και σε μερικές περιπτώσεις θρυμματισμό του DNA, ανάλογα με τη χορηγούμενη δόση Zn (Paramanatham R. et al., 1997).

3.1.2.β Έλλειψη Zn

Η μειωμένη χορήγηση Zn μέσω της διαίτας προκαλεί μείωση της συγκέντρωσης αρκετών πρωτεϊνών όπως της αλβουμίνης, της τρανσφερίνης και της προαλβουμίνης που μεταφέρονται μέσω του ορού. Η συγκέντρωση Zn παίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό των πρωτεϊνών στο ήπαρ και επηρεάζει τη διαθεσιμότητά των πρωτεϊνών στους ιστούς, ενώ είναι δυνατό να επηρεάζει και τη διαθεσιμότητα άλλων θρεπτικών συστατικών όπως της βιταμίνης A και του σιδήρου Bates J. et al., 1981. Ο Zn συμμετέχει στο μεταβολισμό των φαρμάκων και στη διακίνηση της βιταμίνης A από το ήπαρ καθώς και στην άμυνα του οργανισμού απέναντι στις ελεύθερες ρίζες. Η κατανομή του Zn στον οργανισμό επηρεάζεται από τις στεροειδείς ορμόνες και τον λευκοκυτταρικό ενδογενή μεσολαβητή (LEM). Χαμηλά επίπεδα Zn φαίνεται να καταργούν τη δράση της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (Cu,Zn ένζυμο) και έτσι καθιστούν τα ηπατοκύτταρα πιο ευάλωτα σε οξειδωτικές βλάβες π.χ. από αλκοόλ. Σε ασθενείς με ασθένειες ήπατος, χαμηλά επίπεδα Zn στον ορό σχετίζονται με μειωμένα επίπεδα βιταμίνης A και της δεσμευτικής πρωτεΐνης της ρετινόλης (Ritland S. et al., 1985).

Η ηπατική δέσμευση Zn συνδέεται με τη σύνθεση του παράγοντα LEM στο ήπαρ από οξειές δραστικές πρωτεΐνες όπως σεουλοπλασμίνη, ιωδογόνο, A₁-αντιπρυψίνη, απτοσφαιρίνες (Prasad AS, 1988). Επίσης ο Zn ασκεί προστατευτικό ρόλο στην προκαλούμενη από το Cd τοξικότητα ενώ η διαίτα με χαμηλή συγκέντρωση Zn αυξάνει τη συσσώρευση Cd στο ήπαρ, το νεφρό και τους όρχεις, καθώς αυξάνει η συγκέντρωση των επαγόμενων από Cd μεταλλοθειονινών σε σχέση με τις μεταλλοθειονίνες που επάγονται από Zn (Waalkes MP., 1986).

Έχει διαπιστωθεί από πολλούς ότι ασθένειες του ήπατος προκαλούν μείωση των επιπέδων Zn του ορού και του ήπατος όπως η ηπατική κίρρωση (αλκοολική και μη), ηπατίτιδα, η νόσος του Crohn, η χρόνια παγκρεατίτιδα και παθήσεις της κοιλιάς. Σε ορισμένες περιπτώσεις οι ασθενείς κινδυνεύουν από την έλλειψη Zn και σε μια μελέτη στην οποία μετρήθηκαν τα επίπεδα Zn στους διάφορους τύπους των

λευκοκυττάρων, του πλάσματος, και των ερυθροκυττάρων, ασθενών που έπασχαν από κίρρωση του ήπατος, παρατηρήθηκαν σημαντικά μειωμένες συγκεντρώσεις Zn. Οι ασθενείς με τη μεγαλύτερη ποικιλία βλαβών στο ήπαρ είχαν και τις μικρότερες συγκεντρώσεις Zn, ιδιαίτερα στα πολυμορφοπύρρηνα. Η ελάττωση του Zn στον ορό προκαλεί μείωση της δράσης της αλκαλικής φωσφατάσης και αλλαγές στο αντιοξειδωτικό σύστημα των ερυθροκυττάρων που χαρακτηρίζονται από μείωση της γλουταθειόνης, αύξηση της δράσης της S-τρανσφεράση γλουταθειόνης και μείωση της δράσης της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (Goode HF. et al., 1990, Kraus A. et al., 1997).

Η έλλειψη Zn έχει σημαντική επίδραση στην πρωτεϊνοσύνθεση και στην έκφραση ειδικών mRNAs στο ήπαρ κυρίως λόγω μείωσης του ρυθμού σύνθεσής τους (Kimball SR. et al., 1995). Μια άλλη επίδραση της έλλειψης Zn στο ήπαρ αφορά τη σύνθεση των λιπαρών οξέων των φωσφολιπιδίων. Πειραματόζωα στα οποία χορηγήθηκε μειωμένος Zn παρουσίασαν χαμηλότερα επίπεδα λινολεϊκού οξέος, αραχιδονικού οξέος και ολικών λιπαρών οξέων στα φωσφολιπίδια του ήπατος σε σχέση με την ομάδα των πειραματόζωων που έλαβαν δίαιτα επαρκή σε Zn. Πιστεύεται ότι η βασική επίδραση της έλλειψης Zn αφορά την ενσωμάτωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (Eder K. et al., 1994).

Παράλληλα η έλλειψη Zn επηρεάζει το μεταβολισμό των ηπατικών ανδρογόνων, το μεταβολισμό υποδοχέων δέσμευσης οιστρογόνων και των ορμονών αναπαραγωγής. Φαίνεται να υπάρχει μείωση στη μετατροπή της τεστοστερόνης σε διϋδροστερόνη και γενικά αλλάζει ο ηπατικός μεταβολισμός των στεροειδών ορμονών λόγω τροποποίησης των επιπέδων των υποδοχέων τους, πράγμα που οδηγεί σε παθογένεια λόγω δυσλειτουργίας του ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος (Om AS. et al., 1996).

3.1.3 Pb - ήπαρ

3.1.3.α Τοξικότητα Pb

Η τρανσφερίνη είναι η κύρια πρωτεΐνη μεταφοράς Fe στον ορό και σε άλλα υγρά του σώματος και παίζει σημαντικότατο ρόλο στη δέσμευση Fe από τον οργανισμό. Το ήπαρ έχει σημαντική θέση στη σύνθεση της τρανσφερίνης, η παραγωγή της οποίας επηρεάζεται πολύ από την παρουσία Pb που προκαλεί μείωση στη σύνθεσή της επηρεάζοντας το μεταβολισμό του Fe. Σε πειράματα χορήγησης Pb σε ανθρώπινες κυτταρικές σειρές ήπατος αλλά και απ' ευθείας χορήγηση σε επίμυες παρατηρήθηκαν μειωμένα επίπεδα της S- τρανσφεράσης της γλουταθειόνης καθώς και των επιπέδων mRNA. Η γλουταθειόνη είναι ένα πολύ σημαντικό αντιοξειδωτικό που προστατεύει τη μεμβράνη από οξειδωτικές παρεμβολές και θεωρείται ένας σημαντικός παράγοντας προσδιορισμού της ιστικής βλάβης από περιβαλλοντικά χημικά. Τα επίπεδα ανηγμένης γλουταθειόνης μειώνονται σημαντικά μετά από έκθεση σε Pb με ταυτόχρονη αύξηση της οξειδωμένης γλουταθειόνης. Η αλλαγή στη σχέση οξειδωμένης/ανηγμένης γλουταθειόνης είναι αποτέλεσμα της δράσης της ανηγμένης αναγωγάσης της γλουταθειόνης και της ανάλωσης της γλουταθειόνης για αποτοξίκωση του Pb (Sandhir R. et al., 1995, Barnum - Huckins KM. et al., 1997, Daggett DA. et al., 1997).

Σε πειραματόζωα που προσέλαβαν αρκετή ποσότητα Pb παρατηρήθηκε σημαντική συσσώρευσή του στο ήπαρ και κυρίως αύξηση της λιπιδικής υπεροξειδωσης. Σαν επακόλουθο αυτής της αύξησης είχαμε αναστολή δραστηριοτήτων μερικών βασικών αντιοξειδωτικών ενζύμων (δισμουτάση του

υπεροξειδίου, καταλάση, αύξηση στην υπεροξειδάση γλουταθειόνης και μείωση της αναγωγάσης γλουταθειόνης). Η τοξικότητα του Pb έγκειται στην αύξηση της οξειδωτικής βλάβης στις μεμβράνες και επομένως των κυτταρικών λειτουργιών.

• Ο Pb παρεμβαίνει στο μεταβολισμό απαραίτητων ιχνοστοιχείων, αναστέλλει το μεταβολισμό αρκετών φαρμάκων στο ήπαρ, αναστέλλει τη βιοσύνθεση της αίμης, αλλάζει την ομοιόσταση του Ca^{+2} , μειώνει τα επίπεδα της βιταμίνης C στο ήπαρ και επίσης προκαλεί βλάβες στις μεμβράνες των κυττάρων. Εισάγει δηλαδή έναν παθολογικό μηχανισμό παραγωγής ελευθέρων ριζών που οδηγεί σε λιπιδική υπεροξειδωση και αποδόμηση των φωσφολιπιδίων, με διαταραχή της ακεραιότητας της μεμβράνης και ανάπτυξη βλάβης του οργάνου (Vij AG et al., 1998).

3.1.4 Cd - ήπαρ

3.1.4.a Τοξικότητα Cd

Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι μπορεί να υπάρχει αύξηση της λιπιδικής υπεροξειδωσης σαν συνέπεια της έκθεσης σε Cd. Φαίνεται ότι το Cd παράγει δραστικά – είδη οξυγόνου τα οποία με τη σειρά τους είναι υπεύθυνα για τις δυσάρεστες επιδράσεις του. Μετά από χορήγηση $CdCl_2$ σε πειραματόζωα παρατηρήθηκε αύξηση της λιποϋπεροξειδωσης στα ηπατικά μιτοχόνδρια και μικροσώματα και μείωση της περιεχόμενης γλουταθειόνης και της δισμουτάσης του υπεροξειδίου του ήπατος καθώς και αύξηση των συγκεντρώσεων της ολικής χολερυθρίνης και της δράσης της αμινοτρανφεράσης της αλανίνης (ALT). Επίσης χορήγηση ιόντων Cd^{+2} σε επίμυες προκάλεσε σημαντική μείωση του ολικού περιεχομένου κυτοχρώματος P-450 καθώς και των πρωτεϊνών των μικροσωματίων (Alexidis AN. et al., 1994).

Το διαλυμένο Cd μπορεί να συσσωρευτεί και να προκαλέσει τοξικότητα στο ήπαρ, τα νεφρά, τον εγκέφαλο, τους πνεύμονες, την καρδιά, τους όρχεις και στο κεντρικό νευρικό σύστημα. In vivo εισαγωγή του Cd αναστέλλει τη δραστηριότητα της δισμουτάσης του υπεροξειδίου και αυξάνει τα επίπεδα της λιποϋπεροξειδωσης στο ήπαρ και στα νεφρά, προκαλεί αύξηση της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης και μείωση της αναγωγάσης της γλουταθειόνης και καταλάσης. Ο συνδυασμός λήψης Cd και χαμηλής συγκέντρωσης ασκορβικού οξέος αυξάνει τη λιπιδική υπεροξειδωση στο νεφρό, το ήπαρ και τον ορό (Bagchi D. et al., 1996, Novelli EL. et al., 1998).

Ύστερα από χορήγηση μεγάλης συγκέντρωσης Cd σε ζώα, παρατηρήθηκαν διάφορες μορφές ηπατικής νέκρωσης, ειδικότερα παρατηρήθηκαν διαφοροποιήσεις στα ηπατοκύτταρα όπως διπύρρηνα κύτταρα, ανισοπύρρηνα κύτταρα καθώς και κυτταρομεγαλία στα κυττάρα Kupffer. Η κυτταροτοξικότητα που προκαλείται στα ηπατοκύτταρα λόγω χορήγησης Cd εκτιμάται από τη βιωσιμότητα των κυττάρων, την αυξημένη δράση της αφυδρογονάσης του γαλακτικού οξέος καθώς και την ενδοκυτταρική λιπιδική υπεροξειδωση και τις δραστικές μορφές οξυγόνου. Η εκδήλωση τοξικότητας λόγω Cd είναι παρόμοια με την εκδήλωση της τοξαιμίας (π.χ. υπέρταση, πρωτεϊνουρία, οίδημα) (Andersen O., 1985, Funakoshi T. et al., 1997).

Σε καλλιέργειες ηπατοκυττάρων παρατηρήθηκε ότι η παρουσία εξωκυτταρικού Ca^{+2} μειώνει την κυτταροτοξικότητα του Cd καθώς και ότι προκαλεί λιγότερες μορφολογικές αλλοιώσεις, μειώνει την απελευθέρωση ενζύμων και αυξάνει τα επίπεδα των πρωτεϊνών (Chisolm JC. et al., 1996, Yoshida M. et al., 1993)



3.2 Νεφρός

3.2.1 Cu – νεφρός

3.2.1.α Τοξικότητα Cu

Τόσο η περίσσεια όσο και η έλλειψη Cu μπορούν να προκαλέσουν τοξικότητα στα κυτταρικά συστήματα των θηλαστικών *in vivo* ή/και *in vitro*. Οι επιδράσεις αυτές οφείλονται κυρίως στις ομοιότητες των ιόντων Cu^{+2} με διάφορα συστατικά του κυττάρου όπου παρατηρείται υψηλή συγγένεια προς τα νουκλεϊκά οξέα καθώς και μεγάλη τάση σύνδεσης με το DNA. Οι πυρήνες αποτελούν δυναμικές θέσεις για προσωρινή αποθήκευση του Cu ενώ κύριοι στόχοι των ελευθέρων ιόντων Cu^{+2} είναι οι θειολικές ομάδες που ανάγουν τα ιόντα Cu^{+2} σε Cu^{+1} και τα καθιστούν σταθερά σε συνθήκες ανοξίας καθώς και πιο τοξικά (Agarwal K. et al., 1989).

Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις νεφρικής τοξικότητας λόγω Cu με αποτελέσματα όπως αιμοσφαιρινουρία, αιματοουρία, αυξημένο άζωτο του αίματος στα ούρα. Αυτές οι επιπτώσεις οφείλονται στην ενδοαγγειακή αιμόλυση και στην επακόλουθη ανάπτυξη οξείας νέκρωσης των σωληναρίων. Μικροσκοπική ανάλυση των ούρων καθώς και βιοψία των νεφρών σ' αυτούς τους ασθενείς δείχνουν παρουσία αιμοσφαιρίνης και κυτταρικών τύπων στα ούρα καθώς και υπεραιμία των σωληναριακών σπειραμάτων καθώς και νεκρώσεις των σωληναριακών κυττάρων. Είναι πιθανό οι νεφρικές βλάβες να οφείλονται στην απ'ευθείας τοξική επίδραση του Cu (πειράματα σε ποντίκια έδειξαν ότι ο Cu μπορεί να προκαλέσει απ'ευθείας νέκρωση των σωληναρίων στα ποντίκια) (Fergusson JE, 1990, Toyokuni S. et al., 1989).

Σε πειραματόζωα που χορηγήθηκε Cu - CaEDTA (ως θεραπευτικό συστατικό για την έλλειψη Cu) παρατηρήθηκαν εκφυλίσεις, αιμορραγίες και νεκρώσεις στο ήπαρ και τα νεφρά, ενώ οι επιπτώσεις αυτές αυξάνονται με τις διάφορες δόσεις Cu. Έχει παρατηρηθεί ότι κατά τη διάρκεια της οξείας τοξικότητας Cu, ο ρυθμός μεταφοράς Cu είναι περισσότερο υπεύθυνος για τις βλάβες στο ήπαρ και το νεφρό παρά η ολική ποσότητα μεταφερόμενου Cu σ' αυτά τα όργανα. Οι μεγάλοι ρυθμοί μεταφοράς Cu πιθανά υπερβαίνουν τους ενδογενείς μηχανισμούς της εναπόθεσης Cu και η ελεύθερη ποσότητα του Cu που παραμένει στο κύτταρο προκαλεί την νέκρωση (Giuliodori MJ., 1997).

Σε επίμυες που ενέθηκε Cu ή Zn παρουσιάστηκαν αυξημένες συγκεντρώσεις -μεταλλοθειονινών στα νεφρά και το ήπαρ. Η είσοδος υπερβολικής ποσότητας Cu με/ή χωρίς έλλειψη Co, στα πρόβατα και τα βοοειδή μπορεί να προκαλέσει νεφροπάθεια. Ακόμη, νεφρική νέκρωση μπορεί να παρατηρηθεί σε πέστροφες, ερπετά και σκώληκες από Cu που προέρχεται από εκπλύσεις λιπασμάτων. Η εισαγωγή ποσότητας Cu μεγαλύτερης των 10g μπορεί να προκαλέσει νεφρική τοξικότητα, ενώ μια γενετική ανωμαλία που σχετίζεται με μεταβολικές διαταραχές του Cu (π.χ. ασθένεια Wilson) μπορεί να προκαλέσει μεταξύ των άλλων και νεφρική δυσλειτουργία (Ritland S., 1985).

3.2.1.β Έλλειψη Cu

Η χαμηλή διαίτα σε Cu προκαλεί διάφορες επιπτώσεις στην υγεία όπως αναιμία, κυτομεγαλία του ήπατος, παγκρεατική ατροφία και πολυεστιακή νέκρωση, πολλαπλασιασμό των κυττάρων αιμοποιητικού στο σπλήνα, αύξηση του βάρους της καρδιάς, μειωμένα επίπεδα Cu του πλάσματος. Σε αρουραίους με διατροφή

μειωμένης περιεκτικότητας σε Cu παρατηρήθηκε μείωση του βάρους του σώματος και των νεφρών σαν αποτέλεσμα της αύξησης των κενοτοπίων στο κυτόπλασμα των νεφρών. Επίσης η έλλειψη του Cu προκάλεσε βλάβες στα νεφρά και ειδικότερα φλοιϊκή ατροφία (Greenman DL. et al., 1996).

Η χορήγηση επίσης σε επίμυες δίαιτας μειωμένης συγκέντρωσης Cu προκάλεσε 50-70% αύξηση της σύνθεσης της ανηγμένης γλουταθειόνης του ήπατος. Επιπλέον οι νεφροί των επίμυων που έπαιρναν χαμηλές συγκεντρώσεις Cu απομάκρυναν 40% περισσότερη γλουταθειόνη από το αίμα σε σχέση με τα πειραματόζωα που τρέφονταν με επαρκή συγκέντρωση Cu. Στο ήπαρ παρατηρήθηκε αύξηση της έκφρασης της γ-γλουταμυλκυστεϊνικής συνθετάσης (το περιοριστικό ένζυμο βιοσύνθεσης της γλουταθειόνης) ενώ η αυξημένη δέσμευση της γλουταθειόνης από το νεφρό διαπιστώθηκε ότι οδηγεί σε μείωση της έκφρασης της γ-γλουταμυλκυστεϊνικής συνθετάσης του νεφρού (Kim S. et al., 1996).

Επίσης η διαίτα με ελλιπή συγκέντρωση Cu είναι δυνατό να προκαλέσει μείωση των δραστηριοτήτων ενός μεταλλοενζύμου του Cu, της οξειδάσης της διαμίνης (DAO) τόσο σε νεφροπαθείς ασθενείς όσο και σε πειραματόζωα που τρέφονται με διαίτα χαμηλή σε Cu (DiSilvestro RA. et al., 1997).

3.2.2 Zn - νεφρός

3.2.1.α Τοξικότητα Zn

Ο οργανισμός έχει την ικανότητα να προσαρμόζεται στις απαιτήσεις σε Zn, έτσι όταν λαμβάνεται μειωμένη ποσότητα Zn η απέκκριση του μετάλλου είναι πολύ μικρή (~1mg) και αντίστροφα. Ο Zn δείχνει μικρό βαθμό τοξικότητας, αλλά ισχυρές δόσεις Zn αλληλεπιδρούν με άλλα ιχνοστοιχεία και ιδιαίτερα το χαλκό. Τέτοιες αλληλεπιδράσεις έχουν ήδη παρατηρηθεί κατά τη λήψη 50 mg Zn, έτσι φαίνεται ότι το εύρος μεταξύ του απαραίτητου (5-15mgd⁻¹) και της δυναμικά τοξικής ποσότητας Zn είναι σχετικά μικρό (Sandstrom B., 1995).

Η ενδοπεριτονιακή χορήγηση Zn σε πειραματόζωα προκαλεί σημαντικές αυξήσεις στις συγκεντρώσεις Zn στα νεφρά, το ήπαρ και το πάγκρεας, σημαντικό ρόλο στην συσσώρευση και την απελευθέρωση του Zn παίζουν οι μεταλλοθειονίνες I και II όπου έχουν προστατευτικό ρόλο τόσο στην τοξικότητα όσο και στην έλλειψη Zn (Kelly EJ, et al., 1996).

Σε περιπτώσεις ασθενών που κατάπιαν κατά λάθος διαλύματα που περιείχαν Zn παρατηρήθηκαν διάφορα συμπτώματα όπως ναυτίες, έμετοι, πόνοι, υποχαλκαιμία. Όσον αφορά τη λειτουργία του νεφρού παρατηρήθηκαν νεφρική ανεπάρκεια και μικροαιματοουρία, τελικά όμως οι ασθενείς έδειξαν πλήρη αποθεραπεία (Hantson P. et al., 1996, Chobanian SJ., 1981).

3.2.1.β Έλλειψη Zn

Πειράματα σε ομάδες επίμυων με δίαιτες χαμηλής περιεκτικότητας σε Zn, έδειξαν κατ' αρχήν μείωση της συγκέντρωσης Zn στο πλάσμα και το νεφρό καθώς και διάφορες λειτουργικές επιπτώσεις στο νεφρό και ιδιαίτερα στις δραστηριότητες των αντιοξειδωτικών ενζύμων και της λιπιδικής υπεροξειδωσης των σπειραμάτων. Γενικά τα πειραματόζωα που είχαν χαμηλή διαίτα σε Zn εμφάνισαν διαφορές στην ανάπτυξη και μειωμένη όρεξη, ενώ παράλληλα έδειξαν μείωση της κρεατινίνης και αύξηση της μαλονικής διαλδεύδης (MDA) των σπειραμάτων, σε σχέση με τα πειραματόζωα που έλαβαν διαίτα επαρκή σε Zn.

Επίσης παρατηρήθηκαν μειωμένες συγκεντρώσεις Zn στο φλοιό των νεφρών, των ζώων που είχαν έλλειψη Zn, ενώ οι δραστηριότητες της δισμουτάσης του υπεροξειδίου των σπειραμάτων ήταν αυξημένες σε σχέση με την ομάδα μάρτυρα όπου υπήρχε κανονική δραστηριότητα της δισμουτάσης του υπεροξειδίου και του υπεροξειδίου της γλουταθειόνης. Η έλλειψη Zn φαίνεται να αυξάνει το σχηματισμό των δραστικών μορφών οξυγόνου αλλά δεν επηρεάζει τις δράσεις των ενδογενών αντιοξειδωτικών ενζύμων των εσπειραμένων κυττάρων των σωληναρίων (Chen SM. et al., 1998).

3.2.3 Pb - νεφρός

3.2.3.α Τοξικότητα Pb

Η χρόνια έκθεση σε Pb του περιβάλλοντος έχει συνδεθεί με βλάβες της νεφρικής λειτουργίας στους ανθρώπους. Χρόνια νεφροπάθεια λόγω Pb αναπτύσσεται όταν ο νεφρός συρρικνώνεται καθώς και λόγω χρόνιας ατροφίας των σπειραμάτων. (Αυτές οι επιπτώσεις απαντώνται σε ανθρώπους που εκτίθενται σε μεγάλες ποσότητες Pb π.χ. επαγγελματικές δραστηριότητες ή άλλες πηγές). Τα επίπεδα Pb του αίματος σχετίζονται άμεσα με το ρυθμό σπειραματικής διήθησης καθώς και με την υπερτροφία του νεφρού. Στο νεφρικό σύστημα η αρχική βλάβη συμβαίνει στο περιφερικό σωληναριακό σύστημα, με αποτέλεσμα τη μειωμένη επανα-απορρόφηση της γλυκόζης και των α-αμινοξέων, καθώς και την παρουσία αυτών στα ούρα.

Οι επιπτώσεις είναι αμινοξουρία, γλυκοζουρία, υπερφωσφατουρία και υπερφωσφαταναμία (Khalil-Manesh F. et al., 1994).

Σε πείραμα που έγινε σε αρσενικούς και θηλυκούς επίμυες για την επίδραση του Pb στη λειτουργία των νεφρών, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση του βάρους του νεφρού, καθώς και βλάβες στα σωληνάκια, με συχνές μιτώσεις στα εγγύς εσπειραμένα κύτταρα. Μετά από έκθεση 7 εβδομάδων παρατηρήθηκαν εντερική ίνωση, χαρακτηριστικά ενδοπυρηνικά έγκλειστα και μεγάλη βλάβη στα σωληναριακά κύτταρα με πυρηνικό και κυτοπλασματικό πλειομορφισμό. Ακόμη τα ζώα έδειξαν σημαντικά χαμηλότερα βάρη του σώματος και συγκεντρώσεων κρεατινίνης των ούρων. Η χορήγηση Pb προκάλεσε αύξηση της απέκκρισης της S-τρανφεράσης της γλουταθειόνης (GST) στα νεφροκύτταρα ενώ τα αρσενικά ζώα έδειξαν μεγαλύτερη αύξηση στην απέκκριση της β₂-μικροσφαιρίνης και της αφυδρογονάσης του γαλακτικού σε σχέση με τα θηλυκά (Vyskosil A. et al., 1995, Fels LM., 1998, Moser R. et al., 1995).

Οι μηχανισμοί τοξικότητας του Pb φαίνεται ότι ασκούνται μέσω δυο πρωτεϊνών του νεφρού. Ταυτοποιήθηκαν δυο πολυπεπίδια του Pb, η θυμοσίνη βήτα 4 και η ακυλ-CoA δεσμευτική πρωτεΐνη. Αυτά τα πολυπεπίδια δεσμεύουν το 35% του ολικού Pb στο νεφρικό φλοιό και λαμβάνουν μέρος σε πολλές λειτουργίες (π.χ. στη ρύθμιση του πολυμερισμού της ακτίνης, δράση του ενζύμου του εξαρτώμενου από την καλμοδουλίνη, το μεταβολισμό της ακυλ-CoA πρωτεΐνης, τη ρύθμιση του υποδοχέα της βενζοδιαζεπίνης, στη στεροειδογένεση) (Smith DR. et al., 1998).



3.2.4 Cd - νεφρός

3.2.4.α Τοξικότητα Cd

Εφόσον το Cd περάσει από το γαστρεντερικό σύστημα ή τους πνεύμονες μεταφέρεται μέσω του αίματος στο ήπαρ πιθανώς δεσμευμένο με την αλβουμίνη. Στο ήπαρ το Cd επάγει τη σύνθεση της μεταλλοθειονίνης και στη συνέχεια υπάρχει μια μικρή απελευθέρωση Cd-μεταλλοθειονίνης από το ήπαρ στο αίμα. Το σύμπλεγμα Cd-μεταλλοθειονίνης κατανέμεται σε όλα τα όργανα του σώματος αλλά κυρίως στο νεφρό. Παρόμοια με τις άλλες μικρού ΜΒ πρωτεΐνες του πλάσματος η Cd-μεταλλοθειονίνη φιλτράρεται μέσω των εσπειραμένων στα αρχικά ούρα. Στη συνέχεια επαναροφάται από τα σωληναριακά κύτταρα πιθανώς με πινοκύτωση. Στα σωληναριακά κύτταρα τα λυσοσώματα περιέχουν πεπτικά ένζυμα και έτσι γίνεται αποδόμηση του συμπλόκου Cd-μεταλλοθειονίνης και απελευθέρωση του Cd στο κυτταρόπλασμα. Τα σωληναριακά κύτταρα έχουν ικανότητα παραγωγής μεταλλοθειονίνης από μόνα τους, αποτρέποντας έτσι τις τοξικές επιδράσεις από το Cd που δεν είναι δεσμευμένο με τη μεταλλοθειονίνη. Όταν ξεπερνιέται η ικανότητα παραγωγής μεταλλοθειονίνης στα σωληναριακά κύτταρα τότε εμφανίζονται τα πρώτα σημάδια τοξικότητας των νεφρών. Ένα από τα πιο σημαντικά στοιχεία του μεταβολισμού του Cd είναι η παρατεταμένη ημίσεια ζωής του (Nordberg GF. et al., 1997).

Το όργανο με την υψηλότερη συγκέντρωση Cd είναι ο νεφρός και ιδιαίτερα ο φλοιός. Οξεία τοξικότητα επέρχεται κυρίως με χορήγηση Cd ή Hg και χαρακτηρίζεται από πηκτική νέκρωση των επιθηλίων των σωληναρίων του νεφρού. Η συγκέντρωση Cd αυξάνεται έως τα 40-50 χρόνια ζωής του ανθρώπου και μετά μειώνεται, επίσης αυξάνεται με το κάπνισμα (Fergusson JE., 1990).

Με τη χρόνια έκθεση προκαλείται πυρηνομεγαλία (Karyomegaly) και λιγότερο συχνά κυτταρομεγαλία των σωληναριακών κυττάρων των νεφρικών φλοιών. Η παρατεταμένη έκθεση σε χαμηλές δόσεις μετάλλων προκαλεί φλοιϊκή ίνωση και τελικά ουραιμία, ενώ παράλληλα προκαλούνται δραματικές αλλαγές στη μορφή των πυρήνων των σωληναριακών κυττάρων (Payne BJ. et al., 1978). Έχει αναφερθεί ότι στους επίμυες η χρόνια έκθεση σε μικρές συγκεντρώσεις Cd προκαλεί αύξηση της αρτηριακής πίεσης με συγκράτηση Na^+ στο νεφρό ή με απ'ευθείας επίδραση του Cd στα αγγεία. Παρατεταμένη έκθεση σε βιομηχανικό Cd προκαλεί νεφρική δυσλειτουργία που χαρακτηρίζεται από σωληναριακή πρωτεϊνουρία, γλυκοζουρία και αμινοοξουρία. Άλλες τοξικές επιδράσεις είναι η πρόκληση αναιμίας, κατά ένα μέρος αιμολυτικής καθώς και ηπατική δυσλειτουργία κυρίως λόγω υπεργαμμασφαιριναιμίας (Friberg L., 1984).

Έχει φανεί από πειράματα σε ζώα ότι η τοξικότητα του Cd μειώνεται παρουσία διαφόρων άλλων ιχνοστοιχείων. Η βλάβη των νεφροκυττάρων και η νεφροτοξικότητα βελτιώνεται με χορήγηση Se και Zn ενώ η θνησιμότητα βελτιώνεται με χορήγηση Zn. Έχει διαπιστωθεί από πειράματα σε ζώα ότι η τοξικότητα του Cd αναστέλλεται παρουσία απαραίτητων μεταλλικών ιχνοστοιχείων. Επίσης το Ca^{+2} προστατεύει το νεφρό από την κυτταροτοξικότητα του Cd και μια δίαιτα χαμηλού Ca^{+2} μπορεί να αυξήσει την νεφροτοξικότητα του Cd (Yoshida M. et al., 1993). Το Cd που συσσωρεύεται στους νεφρούς μπορεί να προκαλέσει υπέρταση αυξάνοντας την επαναρρόφηση του Na^+ από τα εγγύς σωληνάκια, όμως η οξεία υπέρταση που προκαλείται από μικρές δόσεις Cd φαίνεται να είναι αποτέλεσμα της δράσης του Cd πάνω στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων. Η χρόνια έκθεση σε χαμηλές συγκεντρώσεις Cd έχει αναφερθεί ότι προκαλεί υπέρταση. Σύμφωνα με εργασίες φαίνεται ότι τα

υπερτασικά άτομα είχαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις Cd (4220 μ g/g) στα νεφρά απ' ότι τα άτομα με κανονική πίεση (2940 μ g/g). Άλλοι ερευνητές παρατήρησαν ότι οι υπερτασικοί έχουν 20% περισσότερο Cd στο σώμα τους απ'ότι αυτοί με κανονική πίεση. Η εισαγωγή 1-5ppm Cd στο νερό των επίμυων προκάλεσε υπέρταση. Το φορτίο Cd στον άνθρωπο είναι περίπου 30 mg από τα οποία τα 10mg είναι στο νεφρό και τα 5mg στο ήπαρ (Perry HM. et al., 1982).

Το 1962 οι Schroeder and Vinton ανέφεραν ότι σε σταθερές συνθήκες διαβίωσης (δίαιτα υψηλή σε Zn), η χορήγηση σε επίμυες 5ppm Cd στο πόσιμο νερό για διάστημα ενός χρόνου, προκάλεσε σοβαρή υπέρταση. Άλλοι ερευνητές χρησιμοποιώντας παρόμοιες συνθήκες βρήκαν ότι τα 1.2- 5.5 mgCd/lit στο πόσιμο νερό προκαλούν αύξηση της συστολικής πίεσης από 14 σε 19mmHg μετα από ένα χρόνο κατανάλωσης .

3.3 Αιμοποιητικό Σύστημα

3.3.1 Cu - αιμοποιητικό σύστημα

3.3.1.α Τοξικότητα Cu

Οι αυξημένες συγκεντρώσεις Cu στο πλάσμα του αίματος αποκαλύπτουν τις βιολογικές και τοξικές δράσεις του Cu όταν δεν δεσμεύεται στις μεταλλοθειονίνες του ήπατος (Rui M. et al., 1997).

Η είσοδος υπερβολικής ποσότητας Cu με/ή χωρίς έλλειψη Co μπορεί να προκαλέσει στα πρόβατα και τα βοοειδή αιμόλυση, ενώ αιμόλυση προκαλείται και στον άνθρωπο με την είσοδο ποσότητας Cu μεγαλύτερης των 10g (Scheinberg H., 1976). Μετά από χορήγηση σε ζώα αυξημένης συγκέντρωσης Cu παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης του πλάσματος και δράσης της AST. Οι άλλες παράμετροι δεν επηρεάστηκαν από τις μεταβολές των συγκεντρώσεων Cu και Zn (Werman M. et al., 1992).

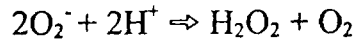
3.3.1.β Έλλειψη Cu

Οι επιπτώσεις από την έλλειψη Cu ποικίλουν σύμφωνα με το βαθμό και τη διάρκεια της έλλειψης, την ηλικία, το φύλο, τον τύπο των υδρογονανθράκων της διατροφής καθώς και τα άλλα μέταλλα που εισέρχονται στον οργανισμό και κυρίως τον Zn. Ο Zn ανταγωνίζεται την απορρόφηση του Cu προκαλώντας τη σύνθεση της εντερικής θειονίνης που δεσμεύει τον εισερχόμενο Cu της πέψης κάνοντάς τον μη διαθέσιμο για το μεταβολισμό (Werman M. et al., 1992).

Οι συνέπειες από την έλλειψη Cu είναι: πτώση των επιπέδων Cu στον ορό και τη σερουλοπλασμίνη, ανεπαρκής απορρόφηση Fe, ουδετεροπενία, λευκοπενία, ανεπαρκής ερυθροποίηση και τελικά θάνατος. Ορισμένες πρωτείνες καταλύουν ειδικές αντιδράσεις μεταβολισμού και μερικές απ' αυτές δεσμεύουν ισχυρά το ιόν του μετάλλου που είναι απαραίτητο για την ενζυμική δράση. Μερικά από τα βασικά είδη πρωτεϊνών στους ιστούς των θηλαστικών είναι: η αλβουμίνη, η λευκωματίνη και η σερουλοπλασμίνη (του πλάσματος). Σχεδόν όλος ο Cu του πλάσματος είναι με τη μορφή σερουλοπλασμίνης, μιας οξειδάσης που καταλύει την οξείδωση των αρωματικών αμινών καθώς και άλλων ουσιών όπως του Fe₂O₃. Ένας μεγάλος αριθμός αμινοοξειδασών είναι χαλκοεξαρτώμενες (Schuschke DA., 1997).

Βασικά μεταλλοένζυμα του Cu είναι η οξειδάση του κυτοχρώματος c που συμμετέχει στην αναπνοή και την οξειδωτική φωσφορλίωση και η δισμουτάση του

υπεροξειδίου ένα ένζυμο που περιέχει Cu και Zn και καταλύει τη αποδόμηση του υπερξειδικού ανιόντος O_2^- .



Η πρωτεΐνη αυτή υπάρχει σε πολλούς ιστούς όπως καρδιά, ήπαρ, εγκέφαλο.

Ο Cu της διαίτας είναι επίσης απαραίτητος και για αρκετούς μηχανισμούς ελέγχου της λειτουργίας των μικροαγγείων που επηρεάζουν τη φλεγμονή, τη μικροαιμόσταση και ρυθμίζουν την περιφερική ροή του αίματος. Μελέτες στη μικροκυκλοφορία δείχνουν ότι ο Cu είναι σημαντικός στους μηχανισμούς διήθησης των μακρομορίων, στις αλληλεπιδράσεις αιμοπεταλίων - ενδοθηλίων και στις δράσεις των λείων μυϊκών ινών των αγγείων. Ακόμη σε πειράματα, παρατηρείται μεγαλύτερη διήθηση πρωτεϊνών από τα τριχοειδή φλεβίδια των επίμυων τα οποία έχουν έλλειψη Cu. Η έλλειψη Cu αναστέλλει επίσης την *in vivo* θρομβογένεση η οποία φαίνεται να σχετίζεται με την αναστολή της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων (Schuschke DA., 1997).

Ο Cu παίζει σημαντικό ρόλο στη σωστή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, προκαλεί μείωση της ιντερλευκίνης 2 καθώς και ελάττωση στον πολλαπλασιασμό των T κυττάρων. Η έλλειψη Cu προκαλεί τόσο μείωση στον αριθμό των ουδετερόφιλων στο ανθρώπινο περιφερικό αίμα όσο και μείωση στην ικανότητά τους να παράγουν ανιόντα υπερξειδίου τα οποία βοηθούν στη θανάτωση των εισερχομένων μικροοργανισμών (Percival SS, 1998).

Σε πείραμα που έγινε σε αγελάδες στις οποίες χορηγήθηκε τροφή με μειωμένη συγκέντρωση Cu μετρήθηκε ο αριθμός των ολικών και των υποπληθυσμών των λευκοκυττάρων, η δράση των ουδετερόφιλων και η φαγοκυττάρωση των ερυθροκυττάρων. Παρατηρήθηκε ότι ο ολικός αριθμός των λευκοκυττάρων δεν επηρεάστηκε από την έλλειψη Cu, όμως διαπιστώθηκε αύξηση του πληθυσμού των μονοκυττάρων, σημαντική μείωση στα β-λεμφοκύτταρα και μειωμένη δράση των ουδετερόφιλων. Επίσης παρατηρήθηκε ότι τα κύτταρα παρέμειναν περισσότερο διάστημα νεαρά και καθυστερούσε η ωρίμανση τους λόγω έλλειψης Cu. Οι επιδράσεις αυτές στο ανοσοποιητικό σύστημα προκαλούν αύξηση των λοιμωδών ασθενειών λόγω έλλειψης Cu (Cerone SI. et al., 1998, Karimbakas JJ. et al., 1998).

Ο Cu έχει μια άμεση και ιδιαίτερη επίδραση στην παραγωγή και ανάπτυξη των ερυθροκυττάρων. Γενικά ο Cu εμπλέκεται στην ανάπτυξη και διατήρηση της καρδιαγγειακής και σκελετικής ακεραιότητας, στην κατασκευή και λειτουργία του κεντρικού νευρικού συστήματος, στην ερυθροποίηση καθώς και στο μεταβολισμό του Fe. Ο ρόλος του Cu στην αναιμία πιστεύεται ότι αφορά ένα ένζυμο τη φεροξειδάση που καταλύει την οξειδωση του εισερχόμενου Fe^{+2} σε Fe^{+3} (O'Dell BL. et al., 1976).

3.3.2 Zn - αιμοποιητικό σύστημα

3.3.2.α Τοξικότητα Zn

Ο Zn, όπως έχει ήδη αναφερθεί, δεν έχει τοξικές επιπτώσεις ακόμη και αν χορηγηθεί σε μεγάλες ποσότητες, αφού οι ομοιοστατικοί μηχανισμοί που αναπτύσσει ο οργανισμός ρυθμίζουν με μεγάλη αποδοτικότητα την απορρόφηση και τη διακίνηση του Zn, κάνοντας σχεδόν απίθανη την παραμονή, για μεγάλο διάστημα, μεγάλων ποσοτήτων Zn.

Στα περισσότερα κύτταρα που παρατηρήθηκε αυξημένη περιεκτικότητα σε Zn τόσο σε *in vitro* όσο και σε *in vivo* συστήματα, φαίνεται να οφειλόταν σε αναστολές διαφόρων λειτουργιών των κυττάρων. Τα συμπτώματα ήταν λειτουργική δυσκινησία, ανενεργότητα και παράλυση των κυττάρων (μαστοκύτταρα, αιμοπετάλια, μακροφάγα,

πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα, σπερματοζωάρια). Οι πιθανές θέσεις επίδρασης του Zn είναι οι κυτταρικές μεμβράνες (Chvapil M., 1976).

Η ικανότητα μετανάστευσης των μακροφάγων αναστέλλεται παρουσία αυξημένου αριθμού ιόντων Zn ενώ η μείωση του Zn αυξάνει την ικανότητα αυτή. Η δράση των φαγοκυττάρων και η μετανάστευση των μακροφάγων επηρεάζεται αρνητικά από την παρουσία περίσσειας Zn (Werman M., 1992).

3.3.2.β Έλλειψη Zn

Ο Zn είναι απαραίτητο στοιχείο για την ανάπτυξη του οργανισμού, για το νευρικό σύστημα και ιδιαίτερα για το ανοσοποιητικό σύστημα. Η συγκέντρωση Zn τόσο *in vivo* όσο και *in vitro* επηρεάζει τη λειτουργία και την ωρίμανση των λεμφοκυττάρων και των μονοκυττάρων του αίματος. Ο Zn αλληλεπιδρά με σημαντικές πρωτεΐνες του ορού που έχουν ανοσολογική δράση, με συστατικά μετάδοσης σημάτων και επίσης συμμετέχει στη λειτουργία της κυτταρικής μεμβράνης, όπως έχει ήδη αναφερθεί (Wellinghausen N. et al., 1998).

Διάφορα ένζυμα που δρουν με υπόστρωμα τις μεμβράνες του κυττάρου, αλλά και η κατασκευή και η λειτουργία των μεμβρανών και οι δράσεις αυτών των ενζύμων εξαρτώνται από τον Zn. Η έλλειψη Zn σε πειραματόζωα έχει σαν αποτέλεσμα την ατροφία του θυμικού και λεμφικού ιστού καθώς και λεμφοπενία, επίσης φαίνεται ότι παρά το γεγονός πως δύο ουδετεροφιλικές δραστηριότητες, η φαγοκυττάρωση και η χημειοταξία, είναι εξαρτώμενες από τον Zn, η απαίτηση για Zn είναι διαφορετική για κάθε μια. Μελέτες στα ερυθρά αιμοσφαίρια δείχνουν ότι ο Zn δεν δρα σαν αντιοξειδωτικό, αλλά ως σταθεροποιητής της μεμβράνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων ενάντια στη βλάβη που συμβαίνει από την επικείμενη οξειδωση και ακόμη η έλλειψη Zn μειώνει την ωσμωτική τους αντοχή (Prasad AS., 1985).

Αρκετές έρευνες έχουν δείξει μειωμένα επίπεδα Zn στον ορό των καρκινοπαθών. Η ποσότητα Zn στον ορό στα άτομα με καρκίνο εξαρτάται από πολλές παραμέτρους όπως ηλικία, διατροφή, είδος και θέση όγκου. Ο υποσιτισμός μπορεί να επηρεάσει τα επίπεδα Zn του πλάσματος λόγω της επίδρασής του στα επίπεδα των πρωτεϊνών και στη δέσμευση του Zn. Περίπου τα 2/3 του Zn του ορού δεσμεύονται χαλαρά στην αλβουμίνη και 1/3 πιο ισχυρά στην α₂-μακροαιμοσφαιρίνη, ενώ ένα μικρό ποσοστό 1-2% δεσμεύεται με αμινοξέα. Η μείωση της αλβουμίνης στις χρόνιες ασθένειες σχετίζεται με μια ανάλογη μεταβολή στα επίπεδα Zn του ορού. Είναι γεγονός ότι η ανάπτυξη του όγκου μπορεί να επηρεάσει το μεταβολισμό του Zn ακόμη και σε ιστούς που βρίσκονται αρκετά μακριά από αυτόν. Η μεταφορά του Zn σε ιστούς μη προσβεβλημένους είναι δυνατόν να συμβάλλει σε αλλαγές των συγκεντρώσεων Zn στον ορό (Vallee BL et al., 1993).

Η ελάττωση της μάζας του όγκου σχετίζεται συχνά με μια επιστροφή στα κανονικά επίπεδα Zn του πλάσματος. Αν κατά τη θεραπεία κατά του καρκίνου παρατηρηθούν χαμηλά επίπεδα Zn στο πλάσμα σημαίνει ότι υπάρχει μειωμένη ανταπόκριση στη θεραπεία περιορισμού του όγκου. Πολλές από τις χημειοθεραπευτικές ουσίες που χρησιμοποιούνται είναι χηλοποιητές μετάλλων και επηρεάζουν την κατανομή Zn και την απέκκρισή του.

Η έλλειψη Zn προκαλεί μειωμένη επάρκεια ανοσίας, καθιστά τα κύτταρα πιο ευάλωτα στη μόλυνση, μειώνει το μέγεθος του θύμου, προκαλεί προοδευτική μείωση του αριθμού των T-κυττάρων και αλλάζει επίσης τη λειτουργία των μακροφάγων, πράγμα που παρατηρείται ιδιαίτερα στο σπλήνα ποντικών (Werman M., 1992).

Ο περιεχόμενος Zn των λευκοκυττάρων έχει αναφερθεί ότι σχετίζεται θετικά με τα επίπεδα Zn των μυών και έχει προταθεί σαν σημαντικός δείκτης της κατάστασης

Zn στο σώμα (Wills MR. et al., 1985).

Έχουν παρατηρηθεί σημαντικές μειώσεις στα επίπεδα Zn του πλάσματος κατά την οξεία φάση πολλών ασθενειών όπως στο έμφραγμα του μυοκαρδίου, στη δυσλειτουργία των νεφρών και του ήπατος, στην νεοπλασία κ.ά. Αυτή η μείωση στον ορό έχει αναφερθεί ότι οφείλεται στην φλοιοεπινεφριδιοτρόπο ορμόνη (ACTH) και στην κορτιζόλη, ορμόνες που εκκρίνονται κατά την οξεία φάση πολλών ασθενειών. Η αύξηση αυτών των ορμονών πιστεύεται ότι επάγει την δέσμευση Zn από το ήπαρ. Επίσης τα επίπεδα Zn του πλάσματος είναι μειωμένα σε ασθενείς που πάσχουν από χρόνιες ασθένειες όπως δρεπανοκυτταρική αναιμία και δεν είναι σαφές αν η μείωση αυτή του Zn οφείλεται σε επίδραση των ορμονών οξείας φάσεως, των κυτοκινών, ή στην αυξημένη απέκκριση από τα ούρα ή και σε συνδυασμό όλων αυτών (π.χ. στην κίρρωση). Τα αιμοπετάλια επίμυων με διατροφική έλλειψη Zn παρουσίασαν βλάβη στη λειτουργία τους κυρίως λόγω της μειωμένης συσσωρευτικής δράσης της ενδοπεροξειδάσης προσταγλανδίνης (Vallee BL et al., 1993, Brewer G. et al., 1979).

Ένας ακόμη προστατευτικός ρόλος του Zn προκύπτει από την ανταγωνιστική του δράση με τον Cu ο οποίος οξειδώνει πολύ γρήγορα την αιμοσφαιρίνη (Hb) ενώ κανένα άλλο μέταλλο, εκτός του Zn, δεν φαίνεται να την προστατεύει. Σε πειράματα με καθαρή αιμοσφαιρίνη βρέθηκε ότι ο Zn αυξάνει πολύ τη συγγένεια του οξυγόνου με αυτήν (Rifkind J. et al., 1977).

3.3.3 Pb - αιμοποιητικό σύστημα

3.3.3.a Τοξικότητα Pb

Η τοξικότητα του Pb σχετίζεται με βλάβες στη λειτουργία του εγκεφάλου, νεφρών, ήπατος και του αιμοποιητικού συστήματος. Ο ιστός που προσβάλλεται κυρίως από τον Pb είναι το αίμα (τοξική συγκ. >30mg/dl). Έχει βρεθεί σημαντική συσχέτιση μεταξύ επιπέδων Pb στο αίμα σε παιδιά που ζούνε σε περιοχές κοντά σε ορυχεία καθώς και σε μεγάλες οδικές λεωφόρους. Τα συνήθη επίπεδα Pb στο αίμα είναι: 1 - 25 μg/dl (Fergusson J., 1990).

Ο Pb εμπλέκεται στο μεταβολισμό ορισμένων απαραίτητων ιχνοστοιχείων, αναστέλλει τη βιοσύνθεση της αίμης και μεταβάλλει την ομοιοστασία του Ca^{+2} . Μελέτες έχουν δείξει ότι ο Pb σχετίζεται με την καταστροφή της κυτταρικής μεμβράνης καθώς και με την παραγωγή ελευθέρων ριζών. Η αύξηση των πρωτοπορφυρινών Zn είναι ένας καλός δείκτης περιφερικής τοξικότητας Pb στο αίμα των πειραματοζώων που δέχονται Pb μέσω του πόσιμου νερού (Sandir R. et al., 1995).

Η χρόνια έκθεση σε Pb έχει σαν αποτέλεσμα σημαντική αναστολή της αιμοποίησης κυρίως μέσω του βιοσυνθετικού μηχανισμού της αίμης, χωρίς να προκαλούνται σημαντικές αλλαγές στο ηπατικό κυτόχρωμα P-450. Σε αντίθεση η οξεία χορήγηση του Pb στους επίμυες προκαλεί σημαντική μείωση στο κυτόχρωμα P-450. Η χρόνια τοξικότητα του Pb σε ασθενείς συνδέεται με διαταραχές του ερυθροποιητικού συστήματος όπως: αναστολή της αφυδατάσης του δ-αμινολεβουλινικού οξέος (ALAD) των ερυθροκυττάρων, αυξημένα επίπεδα πορφυρίνης των ερυθροκυττάρων καθώς και αυξημένα επίπεδα απέκκρισης του δ-αμινολεβουλινικού οξέος μέσω των ούρων (ALA) (Alvares AP. et al., 1976, Goldberg A., 1978). Προκαλεί επίσης αύξηση της ALT του ορού, των επιπέδων Pb του αίματος και των ιστών και προκαλεί σημαντική επαγωγή των μικροσωματικών πρωτεϊνών, ενώ η δραστηριότητα της αναγωγάσης του κυτοχρώματος c φαίνεται να παραμένει σταθερή (Tandoi SK. et al., 1997).

Σε μερικές περιπτώσεις το πόσιμο νερό έχει αυξημένα επίπεδα Pb

(100μg/l(ppb)) και συνεπώς είναι δυνατόν να παρατηρηθεί αύξηση της συγκέντρωσης Pb στο αίμα. Μείωση της συσσώρευσης Pb στο αίμα γίνεται με χορήγηση βιταμίνης C, με ευεργετικές επιπτώσεις στις τοξικές δράσεις του Pb στη βιοσύνθεση της αίμης και στο μεταβολισμό των φαρμάκων (Vij AG. et al.,1998).

Σε έρευνα που έγινε για την επίδραση του Pb στην ανάπτυξη και τη διαφοροποίηση των αιμοποιητικών κυττάρων του μυελού των οστών παρατηρήθηκε ότι η χορήγηση Pb δεν προκαλεί μεταβολές στους παράγοντες ανάπτυξης του πλάσματος αλλά φαίνεται να δρα απ' ευθείας στα μυελοποιητικά κύτταρα (Bincoletto C. et al.,1996).

Ο παράγοντας απορρόφησης του Pb από τη γαστρεντερική οδό στο αιμοποιητικό σύστημα είναι γενικά 0.1 τόσο για την τροφή όσο και για το νερό στους ενήλικες. Υψηλές συγκεντρώσεις Ca^{+2} και Fe^{+2} στις δίαιτες μειώνουν την απορρόφηση Pb και αντίστροφα, όταν υπάρχουν ελλείψεις σε Ca^{+2} , Fe^{+2} παρατηρείται μεγάλη απορρόφηση Pb. Ο Pb της τροφής και του νερού είναι η σημαντικότερη πηγή Pb για τους ενήλικες και τα παιδιά (Fergusson J., 1990).

3.3.4 Cd - αιμοποιητικό σύστημα

3.3.4.α Τοξικότητα Cd

Το Cd προκαλεί οξειδωτικό stress ενώ συγχρόνως επηρεάζει το αντιοξειδωτικό σύστημα, με αποτέλεσμα να προκαλείται οξειδωτική βλάβη στα ερυθροκύτταρα, όπως φαίνεται από πειράματα σε επίμυες. Σε καλλιέργειες ερυθροκυττάρων χορηγήθηκε $CdCl_2$ και μελετήθηκε η προκαλούμενη λιπιδική υπεροξειδωση και η δράση των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Παρατηρείται αύξηση της λιποϋπεροξειδωσης των ερυθροκυττάρων και μείωση της δισμουτάσης του υπεροξειδίου, της καταλάσης και της γλουταθειόνης του αίματος (Sarkar S. et al.,1998).

Σε ένα άλλο πείραμα όπου χορηγήθηκε υποδορίως έγχυση Cd σε επίμυες, παρατηρήθηκε θρυμματισμός των ερυθροκυττάρων και αναιμία με καταστροφή του δομικού πλέγματος της μεμβράνης. Αρχικά η δράση του Cd φαίνεται να αλλάζει το σκελετό της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων ενώ στη συνέχεια υπάρχει ανώμαλη διαμόρφωση του κυττάρου η οποία ενισχύει την αιμόλυση στο σπλήνα και οδηγεί στην αναιμία (Hamada T. et al.,1998).

Η παραγωγή μεταλλοθειονίνης, της πρωτεΐνης που είναι υπεύθυνη για τη δέσμευση Cd, διεγείρεται με χρόνια έκθεση σε μικρές ποσότητες Cd. Το μεγαλύτερο ποσοστό του Cd, του πλάσματος μετά από 180 ημέρες χορήγηση βρίσκεται δεσμευμένο με μεταλλοθειονίνη (Becking GC.,1976). Σε ποντίκια που χορηγήθηκε $CdCl_2$ παρατηρήθηκε αύξηση της παραγόμενης μεταλλοθειονίνης του Cd στο σπλήνα, αύξηση των επιπέδων Cd στα ερυθροκύτταρα, επιδράσεις στην ερυθροποίηση και αναιμία ενώ αρκετοί ερευνητές έδειξαν ότι το Cd των ερυθροκυττάρων προέρχεται από τη μεταλλοθειονίνη του Cd του σπλήνα (Min KS. et al., 1995).

3.4 Καρδιαγγειακό Σύστημα

3.4.1 Cu - Καρδ/κό σύστημα

3.4.1.α Τοξικότητα Cu

Γενικά, δεν αναφέρονται περιπτώσεις που να συνδέουν τη μεγάλη χορήγηση



Cu με βλάβες του καρδιαγγειακού συστήματος. Σε μια έρευνα που έγινε σχετικά με τους θανάτους από καρκίνο και καρδιαγγειακά νοσήματα και των επιπέδων Cu και Zn στον ορό του αίματος παρατηρήθηκε ότι ο πιθανός κίνδυνος καρκίνου και καρδιαγγειακών νοσημάτων ήταν 4 φορές μεγαλύτερος στους ασθενείς που είχαν υψηλή περιεκτικότητα Cu στον ορό σε σχέση με αυτούς που είχαν κανονικά επίπεδα Cu. Μεγαλύτερη θνησιμότητα αντίθετα, παρατηρήθηκε στους ασθενείς με έλλειψη Cu (Kok FJ. et al., 1988).

3.4.1.β Έλλειψη Cu

Ηλεκτροκαρδιογραφικές ανωμαλίες ασθενών εξαφανίστηκαν με συμπληρώματα Cu, ενώ καρδιακά και αιμοφόρα αγγεία πειραματοζώων που αιματώνονται με χαμηλές συγκεντρώσεις Cu εμφανίζουν ανατομικολειτουργικές ανωμαλίες. Οι καρδιές αυτών των ζώων είναι έντονα υπερτροφικές με εκφυλιστικές αλλοιώσεις στις μυϊκές ίνες, χρόνια φλεγμονή και σημεία νέκρωσης. Αυτή η υπερτροφία και η μυοπάθεια που παρατηρείται στα ζώα που καταναλώνουν χαμηλή συγκέντρωση Cu επιδεινώνεται με έγχυση σακχαρόζης ή φρουκτόζης (Anderson R., 1985). Σημαντικούς παράγοντες για την κατανόηση της καρδιακής υπερτροφίας και της καρδιομυοπάθειας που οφείλονται στην έλλειψη Cu αποτελούν τα χαλκοένζυμα λυσινοξειδάση, οξειδάση του κυτοχρώματος c και η δισμουτάση του υπεροξειδίου όπου παρατηρείται μείωση της δραστηριότητάς τους σε συνθήκες έλλειψης Cu. Ο Cu παίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό των λιπιδίων και της κατανάλωσης της ενέργειας στην καρδιά (Medeiros DM. et al., 1997). Ο μειωμένος Cu της διαίτας οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων των λιπιδίων, σε πειραματόζωα που είχαν έλλειψη Cu παρατηρήθηκε μικρότερη δραστηριότητα της σερουλοπλασμίνης του πλάσματος, μικρότερα επίπεδα αιμογλοβίνης, αύξηση της χοληστερόλης του ορού, μεγαλύτερα βάρη καρδιών που σχετίζονται με μεγαλύτερο βαθμό υπερτροφίας της δεξιάς κοιλίας της καρδιάς σε σχέση με τα ζώα που είχαν περίσσεια Cu στη διατροφή τους (Anderson RA. 1986, Lear PM. et al., 1997).

Οι Jones AA. et al., 1997 μετρώντας την δραστηριότητα της δισμουτάσης του υπεροξειδίου των ερυθροκυττάρων, της σερουλοπλασμίνης του πλάσματος καθώς της χοληστερόλης και των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας, οι οποίες αυξάνουν τον κίνδυνο για καρδιαγγειακές ασθένειες, κατέληξαν ότι η αύξηση της χορήγησης Cu οδηγούσε σε σημαντική αύξηση των ενζυμικών δράσεων της δισμουτάσης του υπεροξειδίου καθώς και της οξειδάσης της ντοπαμίνης του πλάσματος, καθώς και σε μεγάλη αύξηση της οξειδωσης των λιποπρωτεϊνών.

Η έλλειψη Cu σχετίζεται με καρδιακή ανεπάρκεια σε επίμυες των οποίων οι μητέρες είχαν έλλειψη Cu. Οι καρδιές των ζώων ήταν διογκωμένες και υπήρχαν μερικά ανευρύσματα, επίσης υπήρχαν νεκρώσεις τόσο στις κοιλίες όσο και στους κόλπους και το αιμοπερικάρδιο. Παρόμοιες επιπτώσεις έχουν εμφανιστεί και στα χοιρίδια. Επίσης παρουσιάστηκε υπερτροφία της καρδιάς πιο εμφανής απ'ότι στην έλλειψη Fe. Η ακεραιότητα του αγγειακού συστήματος ιδιαίτερα των μεγάλων αρτηριών εξαρτάται από την ποιότητα και την ποσότητα του κολλαγόνου και της ελαστίνης στα κυτταρικά τοιχώματα. Η έλλειψη Cu φαίνεται να επηρεάζει τη συνοχή των περιεχομένων πολυπεπτιδίων. Επίσης στους επίμυες που παρουσιάστηκε καρδιομεγαλία λόγω έλλειψης Cu παρατηρήθηκαν μεγαλύτερου μεγέθους μυοκύτταρα και σημαντικά αυξημένη επιφάνεια μιτοχονδρίων που αποτελούσε και τον κύριο λόγο της καρδιακής υπερτροφίας (Mao S. et al., 1998, O'Dell BL., 1976).

3.4.2 Zn - Καρδ/κό σύστημα

3.4.2.α Τοξικότητα Zn

Ο Zn μπορεί να μεταβάλλει τους παράγοντες που σχετίζονται με τις καρδιαγγειακές παθήσεις αλλά οι επιδράσεις από υπερβολική ποσότητα Zn είναι δευτερογενείς εξαιτίας του ανταγωνισμού με τον Cu. Υψηλές ποσότητες συμπληρωμάτων του Zn οδηγούν σε σημαντική μείωση της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (HDL) χοληστερόλης χωρίς καμία αλλαγή στην ολική χοληστερόλη (Anderson R.A., 1986, Anderson R., 1985).

3.4.2.β Έλλειψη Zn

Ο ρόλος του Zn έχει αναφερθεί από πολλούς ερευνητές ότι είναι προστατευτικός ενάντια στην πρόκληση καρκίνου και καρδιαγγειακών παθήσεων.

Ο Zn φαίνεται να έχει αντιοξειδωτική δράση ενώ έχει και προστατευτική επίδραση κατά της επαγωγής της κατεχολαμίνης στον τραυματισμό του μυοκαρδίου, θεωρείται επίσης ότι χρησιμοποιεί και δεσμεύει ελεύθερες ρίζες. Πιστεύεται ότι ο Zn ενισχύει την επιδιορθωτική δράση του 'τραυματισμένου' ενδοθηλίου των αγγείων μέσω της οδού της λιποξυγενάσης (Kaji T. et al., 1995, Kok FJ. et al., 1998).

Η αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης από τον Zn ίσως οφείλεται στον ανταγωνισμό μεταξύ Zn και Cu για την κατάληψη σημαντικών βιολογικά θέσεων με επίδραση στις ελεύθερες ρίζες και στην έναρξη της διεργασίας της λιπούπεροξειδωσης (Filipe PM. et al., 1995).

Ο Zn δρα ως μη άμεσο αντιοξειδωτικό υπέρ της σταθεροποίησης των κυτταρικών μεμβρανών, αναστέλλει την παραγωγή ελευθέρων ριζών και δρα ως προστατευτικός παράγοντας κατά της αρτηριοσκλήρωσης. Έχει βρεθεί ότι ο Zn μπορεί να έχει αντιαθηρωματικές δράσεις εμποδίζοντας τον ανεξέλεγκτο μεταβολισμό των αγγειακών ενδοθηλίων. Λόγω της αντιοξειδωτικής του ικανότητας και της ιδιότητας να σταθεροποιεί τη μεμβράνη φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην προστασία κατά των αποσταθεροποιητικών παραγόντων του κυττάρου όπως των πολυακόρεστων λιπιδίων και των κυτοκινών της φλεγμονής (Kalfakakou V. et al., 1993, Evangelou A. et al., 1995).

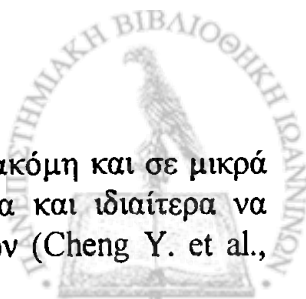
Είναι πολύ πιθανό ορισμένα λιπίδια σε συνδυασμό με την έλλειψη Zn να ενεργοποιούν την παραγωγή κυτοκινών και μέσω και της δυσλειτουργίας των ενδοθηλιακών κυττάρων να οδηγούν σε αθηρωμάτωση. Επίσης ο αντιαθηρωματικός ρόλος του Zn φαίνεται να σχετίζεται με την ικανότητα να αναστέλλει τους παράγοντες που προκαλούνται από το οξειδωτικό stress και που είναι υπεύθυνοι για την ακεραιότητα των ενδοθηλίων και τις αθηρωματώσεις (Hennig B. et al., 1996).

Πειραματική έλλειψη Zn προκαλεί μικρή μείωση στη δράση της δισμουτάσης του υπεροξειδίου και συνδυάζεται με αύξηση της παραγωγής υπεροξειδικών λιπιδίων (Kadrabova J. et al., 1995).

3.4.3 Pb - Καρδ/κό σύστημα

3.4.3.α Τοξικότητα Pb

Αρκετοί ερευνητές έχουν δείξει πως η σωρευτική έκθεση ακόμη και σε μικρά επίπεδα Pb είναι δυνατό να επηρεάσει την καρδιακή λειτουργία και ιδιαίτερα να αυξήσει τον κίνδυνο ενδοκοιλιακών και κολποκοιλιακών φραγμών (Cheng Y. et al.,



1998).

Πειραματικά χορηγήθηκε στο πόσιμο νερό 3 ομάδων επίμυων οξικός μόλυβδος, σε περιεκτικότητες 0.25, 0.5, και 1% αντίστοιχα. Μετά την πάροδο 90 ημερών μελετήθηκαν οι φυσιολογικές και μορφολογικές παράμετροι του καρδιαγγειακού συστήματος. Τα επίπεδα Pb στο αίμα ήταν αυξημένα αλλά στον καρδιακό ιστό υπήρχαν αυξημένα επίπεδα Pb μόνο στις ομάδες που έπιναν 0.5 και 1% οξικό μόλυβδο. Σε αυτές τις ομάδες επίσης υπήρχε υψηλή αρτηριακή πίεση και αύξηση της εισροής Ca^{+2} στο μυοκάρδιο των κόλπων. Επίσης στην ομάδα που έπαιρνε τη μεγαλύτερη δόση παρατηρήθηκε στον καρδιακό ιστό υπεραιμία και μείωση της δραστηριότητας της αφυδρογονάσης του ηλεκτρικού οξέος. Οι ίδιοι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι έκθεση σε Pb μέσω του πόσιμου νερού προκαλεί αύξηση της αρτηριακής πίεσης και μικρές αλλαγές στο μυοκάρδιο κυρίως λόγω της επίδρασης του Pb στη μεταφορά Ca^{+2} (Lal B. et al., 1991).

Σε ένα άλλο πείραμα χορήγησης Pb στο πόσιμο νερό επίμυων, για διάστημα ενός χρόνου, παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης Pb στον καρδιακό ιστό και πτώση διαφόρων ενζύμων της καρδιάς όπως π.χ. της σιδηροχηλικάσης και της αφυδρογονάσης του δ-αμινολεβουλινικού οξέος. Οι αλλαγές αυτές ήταν μέγιστες μετά την πάροδο 6 μηνών χορήγησης ενώ, κατά την ηλεκτρονική μικροσκοπία, φάνηκαν αλλαγές στο μυοκάρδιο και τα μιτοχόνδρια του μυοκαρδίου. Είναι επίσης πιθανό διάφορες ισχαιμικές νόσοι της καρδιάς, που αυξάνουν τη θνησιμότητα, να οφείλονται στον Pb (Moore MR. et al., 1975).

Μία άλλη σοβαρή επίπτωση από την έκθεση σε Pb φαίνεται να είναι η αναστολή όχι μόνο των άμεσων αλλά και των εξαρτώμενων από τον Zn 'επισκευών' των καταστραμμένων στρωμάτων των ενδοθηλιακών κυττάρων (Fujiwara Y. et al., 1998).

3.4.4 Cd - Καρδ/κό σύστημα

3.4.4.a Τοξικότητα Cd

Ορισμένοι ερευνητές εξέτασαν τις επιπτώσεις στον οργανισμό διαφόρων περιβαλλοντικών τοξικών μεταξύ άλλων και του Cd και του Pb. Παρατήρησαν γενικά ότι τα περιβαλλοντικά τοξικά προκαλούν τόσο υπέρταση όσο και καρδιακή αρρυθμία

Οι πιθανοί μηχανισμοί πρόκλησης καρδιαγγειακών παθήσεων από τα περιβαλλοντικά τοξικά είναι (Taylor AE, 1996):

- Βλάβη στο ενδοθηλιακό φράγμα του αγγειακού συστήματος.
- Ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων και των αιμοπεταλίων.
- Έναρξη του σχηματισμού αθηρωματικής πλάκας.
- Ενεργοποίηση - διέγερση του μηχανισμού κατά της φλεγμονής.
- Υπέρταση που οφείλεται η δυσλειτουργία του νεφρού.
- Απευθείας βλάβη στον καρδιακό και αγγειακό ιστό.

Μικρές δόσεις Cd μέσω της διαίτας προκαλούν ιδιαίτερες λειτουργικές και βιοχημικές αλλαγές στους καρδιακούς ιστούς των επίμυων. Σημαντική επίδραση του περιβαλλοντικού Cd μέσω της τροφής και της πόσης είναι η αύξηση της αρτηριακής πίεσης και οι καρδιαγγειακές ασθένειες. Επίσης η συσσώρευση Cd φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά την ομοίωση του ασβεστίου (Kopp SJ. et al., 1982, Staessen JA. et al., 1996, Houtman JP., 1996, Glauser SC. et al., 1976).

Ερευνητικά μελετήθηκε η επίδραση του Cd στο σχηματισμό της

θρομβογένεσης στο ενδοθήλιο και διαπιστώθηκε ότι η απώλεια της θρομβοαντίστασης του ενδοθηλίου οφειλόταν στην παρουσία Cd (Grabowska- Maslanka A. et al., 1998).

Η χορήγηση Cd μέσω του πόσιμου νερού παρατηρήθηκε ότι προκαλεί συσσώρευση κατά μεγάλο μέρος στον καρδιακό ιστό των επίμυων και παράλληλα ελαττώνει το σωματικό τους βάρος και τη μάζα της καρδιάς. Στην ίδια εργασία παρατηρήθηκε μείωση της δράσης της γλουταθειόνης του υπεροξειδίου που περιέχει σελήνιο, ενώ παρουσιάστηκαν αντίστοιχα αυξημένες δράσεις της ολικής δισμουτάσης του υπεροξειδίου, δηλαδή της δισμουτάσης του υπεροξειδίου που περιέχει Mn(MnSOD), και της δισμουτάσης του υπεροξειδίου που περιέχει Cu, Zn(CuZn SOD). Η χορήγηση Se στα παραπάνω πειραματόζωα φαίνεται να ελαττώνει μόνο ένα μέρος από την τοξική δράση του Cd στο καρδιαγγειακό σύστημα (Zikic RV. et al., 1998).

3.5 Ουρογεννητικό Σύστημα

3.5.1 Cu - Ουρογεννητικό σύστημα

3.5.1.α Τοξικότητα Cu

Από μία έρευνα που έγινε για τις επιπτώσεις στη λειτουργία των όρχεων σε αμνούς στους οποίους χορηγήθηκαν, ως πόσιμο νερό, απόβλητα εργοστασίου επεξεργασίας Cu παρατηρήθηκαν βλάβες στη μορφολογία των ιστών, ειδικότερα στα επιφανειακά μέρη των όρχεων. Επίσης η συγκέντρωση του Cu στους όρχεις βρέθηκε να είναι διπλάσια από αυτή των πειραματοζώων του τρεφόταν με κανονικά επίπεδα Cu. Η τοξική δράση του Cu εκφραζόταν με καταστροφή όλων των σταδίων ανάπτυξης των βλαστικών κυττάρων και κυρίως με βλάβη της ακεραιότητας των κυτταρικών μεμβρανών με συνέπεια τη σταδιακή απελευθέρωση των βλαστικών κυττάρων στο σωληνοειδή αυλό. Επίσης παρατηρήθηκε θραύση της κυτταρικής μεμβράνης στα κύτταρα Leydig (διάμεσα κύτταρα) (Vrzgulova M. et al., 1995).

3.5.1.β Έλλειψη Cu

Σε πειράματα που έγιναν σε αμνούς εξετάστηκαν οι επιπτώσεις από την έλλειψη Cu στη λειτουργία των όρχεων και στην παραγωγή σπερματοζωαρίων. Οι ιστολογικές εξετάσεις των όρχεων έδειξαν ότι τα σπερματοφόρα σωληνάκια των όρχεων των ζώων, που είχαν διατροφή με χαμηλή συγκέντρωση Cu, ήταν λιγότερο ανεπτυγμένα και λιγότερο ενεργά από αυτά των ζώων που είχαν διατροφή με επαρκή συγκέντρωση Cu. Ειδικότερα η ελαττωμένη δράση των σπερματοφόρων σωληναρίων οφειλόταν κυρίως στην απενεργοποίηση των κυττάρων Sertoli τα οποία επηρεάζουν τη διεργασία της σπερματογένεσης στη φάση της μεταμόρφωσης. Όταν τα πειραματόζωα έχουν έλλειψη Cu τα κύτταρα Sertoli περιέχουν μικρότερο όγκο κυτοπλάσματος και δεν εκπληρώνουν σωστά τις διεργασίες τους στα σπερματοφόρα σωληνάκια (Van Niekerk FE. et al., 1989).

Σε ένα άλλο πείραμα όπου εξετάστηκαν οι επιπτώσεις στους επίμυες από την έλλειψη Cu φάνηκε ότι σημαντικό ρόλο παίζουν τα επίπεδα της τεστοστερόνης. Οι θηλυκοί επίμυες προστατεύονται από τη θνησιμότητα λόγω των οιστρογόνων τα οποία αλλάζουν την υποκυτταρική κατανομή του Cu στο ήπαρ και αυξάνουν τα επίπεδα Cu του πλάσματος, επάγοντας την σύνθεση σερούλοπλασμίνης και μειώνοντας τις συγκεντρώσεις του Cu στους ιστούς (Bedwal RS. et al., 1994).

3.5.2 Zn - Ουρογεννητικό σύστημα

3.5.2.α Τοξικότητα Zn

Δεν έχουν αναφερθεί περιπτώσεις όπου η χορήγηση μεγάλων ποσοτήτων Zn σε πειραματόζωα να έχει προκαλέσει βλάβες στο ουρογεννητικό σύστημα. Αυτό οφείλεται κυρίως στο ότι ο οργανισμός καταφέρνει να αποθηκεύει και να χρησιμοποιεί την απαιτούμενη ποσότητα Zn και να αποβάλλει την επιπλέον ποσότητα. Αντίθετα έχουν αναφερθεί πολλές περιπτώσεις στη βιβλιογραφία χορήγησης σε πειραματόζωα αρκετά μεγάλων ποσοτήτων Zn προκειμένου να ελαττωθεί η αποθήκευση άλλων τοξικών παραγόντων, όπως του Pb και του Cd.

Ιδιαίτερα για τους όρχεις έχουν αναφερθεί περιπτώσεις όπου η χορήγηση Zn μείωσε μέχρι και 30% την εναπόθεση Pb και επίσης απέτρεψε τη μείωση των ενζυμικών δράσεων της αφυδατάσης του δ-αμινολεβουλινικού οξέος και της δισμουτάσης του υπεροξειδίου των όρχεων λόγω της παρουσίας Pb και Cd (Batra N. et al., 1998, Saxena DK. et al., 1989).

3.5.2.β Έλλειψη Zn

Ο Zn φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στο ουρογεννητικό σύστημα και συγκεκριμένα η έλλειψη Zn σε κουνέλια προκαλεί αναστολή ορισμένων λειτουργιών των όρχεων, της επιδιδυμίδας καθώς και των σπερματοδόχων κύστεων και κύρια επηρεάζει τη βιοχημική δράση αυτών των οργάνων καθώς παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης και περιεχομένων γλυκογόνων των όρχεων (Eltohamy MM. et al., 1991). Παράλληλα σε ένα αντίστοιχο πείραμα έλλειψης Zn σε αμνούς παρατηρήθηκε μειωμένη μάζα στην επιδιδυμίδα και τους όρχεις καθώς και μειωμένη ικανότητα παραγωγής τεστοστερόνης. Επίσης παρατηρήθηκαν μικρότερου μεγέθους σπερματοδόχοι κύστες και μικρότερη ανάπτυξη του αυλού. Στις ομάδες αυτές υπήρχε καθυστέρηση στην ανάπτυξη των σπερματοφόρων σωληναρίων και εμφάνιση μεγάλων περιοχών με διάμεσα κύτταρα (Martin GB. et al., 1994).

Σε μία άλλη έρευνα που έγινε σε επίμυες που έπαιρναν τροφή με μειωμένη περιεκτικότητα Zn παρατηρήθηκαν νεκρώσεις στους όρχεις και στα σπερματικά κύτταρα με συνέπεια την ατροφία των σπερματοφόρων σωληναρίων και την ελειμματική διαφοροποίηση των σπερματιδών. Σημαντικό ρόλο στις επιπτώσεις από την έλλειψη Zn παίζει η αύξηση των συγκεντρώσεων Fe που καταλαμβάνει θέσεις του Zn στις σπερματίδες καθώς και η αύξηση του σχηματισμού των ελευθέρων ριζών οξυγόνου (Merker HJ. et al., 1997). Επίσης η έλλειψη Zn σχετίζεται με την οξειδωτική βλάβη των πρωτεϊνών των λιπιδίων και του DNA των όρχεων. Σε αυτές τις ομάδες των επίμυων βρέθηκε μειωμένη δράση της συνθετάσης της γλουταμίνης, μικρότερη παραγωγή ενεργών παραγώγων του θειουβαρβιτουρικού οξέος (TBARS) από Fe, υψηλές συγκεντρώσεις Fe στους όρχεις, αύξηση των επιπέδων του υπεροξειδίου της δισμουτάσης του Cu-Zn, και της αναγωγάσης της γλουταθειόνης. Η οξειδωτική βλάβη που παραίτηρείται είναι αποτέλεσμα της παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου κυρίως λόγω της συσσώρευσης Fe και της μείωσης της δραστηριότητας αντιοξειδωτικών παραγόντων του Zn (Oteiza PL. et al., 1995, Oteiza PL. et al., 1996).

Σημαντικές είναι επίσης οι επιδράσεις από την έλλειψη Zn, στη δράση του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (ACE), που οδηγούν στην ελάττωση της τεστοστερόνης και στην αναστολή της σπερματογένεσης. Ταυτόχρονα παρατηρούνται, στα πειραματόζωα, σημαντικά χαμηλότερα σωματικά βάρη, χαμηλότερα βάρη των όρχεων, καθώς και σημαντικά μικρότερες συγκεντρώσεις Zn

στον ορό και τους όρχεις. Συχνά παρατηρούνται βλάβες στα σπερματοζωάρια των επίμυων που τρέφονται με ελλιπή συγκέντρωση Zn και πιστεύεται ότι ο Zn βοηθά στην παράταση του χρόνου ζωής των εκσπερματούμενων σπερματοζωαρίων και επίσης συνεισφέρει στη σύνδεση κεφαλής και ουράς. Η έλλειψη Zn στους θηλυκούς επίμυες φαίνεται να δημιουργεί προβλήματα στην παραγωγή των ωαρίων, στον οιστρικό κύκλο, συχνές αποβολές, παράταση του χρόνου εγκυμοσύνης, τερατογένεση, γέννηση νεκρών παιδιών, δυσκολίες στον τοκετό, προ-εκλαμψία, τοξαμία, και μικρό βάρος των νεογνών (Bedwal RS. et al., 1994, Stallard L. et al., 1997).

Ιδιαίτερα στους όρχεις οι βλάβες από την έλλειψη Zn είναι αρχικά σπερματική δέσμευση και στη συνέχεια μια σειρά εκφυλισμένων κυττάρων συμπεριλαμβανομένων και αυτών των σπερματοδόχων κύστεων. Επίσης εκφυλιστικές αλλαγές παρατηρούνται και στα διάμεσα κύτταρα. Οι επιπτώσεις αυτές επιβεβαιώνουν παλαιότερες παρατηρήσεις άλλων ερευνητών όπου φαινόταν να υπάρχει σημαντική μείωση στα επίπεδα της τεστοστερόνης του ορού αλλά και των όρχεων, στις ομάδες των επίμυων που έχουν έλλειψη Zn με καταστροφικές συνέπειες στη σπερματογένεση (Hafiez AA. et al., 1990). Άλλοι ερευνητές παρατήρησαν ότι η έλλειψη Zn προκαλεί μείωση των επιπέδων της καλμοδουλίνης στους όρχεις αλλά όχι και στον εγκέφαλο (Law JS. et al., 1987).

3.5.3 Pb - Ουρογεννητικό σύστημα

3.5.3.α Τοξικότητα Pb

Έχουν αναφερθεί σημαντικές επιπτώσεις της τοξικότητας του Pb στο ουρογεννητικό σύστημα και κυρίως στον ορχικό ιστό. Η χορήγηση Pb στους επίμυες μειώνει σημαντικά την παραγωγή σπερματοζωαρίων. Πειραματικά χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά σε αρσενικούς επίμυες αρκετά υψηλή δόση Pb (8mg/kg/d) για αρκετές ημέρες και εξετάστηκε η επίδραση του Pb στην αναπαραγωγική τους δραστηριότητα. Παρά την υψηλή δόση Pb δεν παρατηρήθηκαν μεγάλες βλάβες στα σπερματικά κύτταρα και στα κύτταρα Sertoli. Επίσης η λειτουργία της επιδιδυμίδας δεν είχε επηρεαστεί ενώ ο κύριος στόχος της τοξικότητας του Pb ήταν οι παραπληρωματικοί αδένες, ενώ ταυτόχρονα η τεστοστερόνη του πλάσματος και του αίματος είχε πτώση περίπου 80%. Από την απότομη μείωση της τεστοστερόνης και προγεστερόνης καθώς και τη μείωση του όγκου των σωληναρίων των όρχεων φάνηκε να επηρεάστηκαν κύτταρα Leydig (διάμεσα κύτταρα) (Thoreux-Manlay A. et al., 1995).

Μια άλλη έρευνα έδειξε ότι η επίδραση του Pb, στη λειτουργία της σπερματογένεσης στους επίμυες, ασκείται μέσω των κυττάρων Sertoli. Παρατηρήθηκε οίδημα των πυρήνων και των ακροσωματίων στις σπερματίδες, ενώ στα κύτταρα Sertoli ο πυρήνας θρυμματιζόταν και στο κυτταρόπλασμα υπήρχαν πολλά κενοτόπια. Δεν υπήρχε σημαντική αλλαγή στην κινητικότητα και τον αριθμό των σπερματοζωαρίων της επιδιδυμίδας, ωστόσο υπήρχε αυξημένη περιεκτικότητα σε Pb στους όρχεις και το αίμα. Τελικά διαπιστώθηκε ότι η βλάβη στα κύτταρα Sertoli και στα σπερματικά μπορεί να οδηγήσει σε διαταραχή της σπερματογένεσης στους επίμυες που δέχονται μεγάλες δόσεις Pb (Murthy RC. et al., 1995).

Οι Batra N. et al., 1998 χορηγώντας μέσω του πόσιμου νερού οξικό μόλυβδο σε επίμυες παρατήρησαν συσσώρευση του Pb στους όρχεις και μεγάλη μείωση στη δραστηριότητα των ενζύμων αφυδατάσης του δ-αμινολεβουλινικού οξέος και της δισμουτάσης του υπεροξειδίου των όρχεων. Η μείωση αυτή της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων είναι ικανή να προκαλέσει βλάβες στους όρχεις λόγω της

τοξικής δράσης των ελευθέρων ριζών που παράγονται.

Έγχυση Pb στον προστατικό αδένα των επίμυων είναι δυνατό να προκαλέσει σχηματισμό λίθων στην ουροδόχο κύστη και το νεφρό καθώς και αποτιάνωση της ουροδόχου κύστεως και του προστατικού αδένα (Khare N. et al., 1978).

3.5.4 Cd - Ουρογεννητικό σύστημα

3.5.4.a Τοξικότητα Cd

Η έκθεση σε Cd έχει συσχετισθεί με την εμφάνιση καρκίνου του προστατικού αδένα στον άνθρωπο. Διάφορες μελέτες χρόνιας χορήγησης Cd σε επίμυες απέδειξαν μια θετική συσχέτιση μεταξύ της έκθεσης σε Cd και των εμφανιζόμενων όγκων του προστατικού αδένα, κυρίως μέσω της από του στόματος λήψης του Cd. Αρκετές μελέτες δείχνουν ότι η πρόκληση καρκίνου του προστάτη λόγω Cd είναι ορμονικά εξαρτώμενη ενώ *in vitro* έρευνες έχουν δείξει κακοήγη μεταλλαγή των προστατικών επιθηλιακών κυττάρων κατά την έκθεση σε Cd. Ακόμη υποστηρίζεται ότι το κύριο βιολογικό σύστημα αντιμετώπισης της τοξικότητας του Cd (τα γονίδια μεταλλοθειονίνης) δεν είναι πλήρως ενεργά στις ειδικές θέσεις του προστατικού αδένα των επίμυων με αποτέλεσμα το Cd να προκαλεί όγκους. Σε ένα ποσοστό 60% ασθενών με καρκίνωμα της ουροδόχου κύστεως παρατηρήθηκε ότι το περιεχόμενο Cd ήταν σε αυξημένα επίπεδα (Waalkes MP. et al., 1994, Darewicz G. et al., 1998).

Πολλές μελέτες έγιναν με ενδοπεριτοναϊκή έγχυση στους επίμυες διαφόρων δόσεων CdCl₂ και παρατηρήθηκαν επιπτώσεις στα επιμέρους όργανα. Σε μια τέτοια έρευνα εξετάστηκαν οι επιπτώσεις της έγχυσης στα όργανα αναπαραγωγής και παρατηρήθηκε μείωση του βάρους των όρχεων κατά 40-50% καθώς και των σπερματοδόχων κύστεων και της επιδιδυμίδας. Επίσης τη μεγαλύτερη ευαισθησία στην έκθεση σε Cd φάνηκε να την έχει η τεστοστερόνη του ορού η οποία μειώνεται με μεγαλύτερους ρυθμούς (Laskey JW. et al., 1984). Άλλοι ερευνητές παρατήρησαν ότι η χορήγηση Cd στους όρχεις προκαλεί απόπτωση των κυττάρων των όρχεων, ρήξεις του DNA και άλλες εμφανείς ιστοπαθολογικές αλλαγές. Αποπτωτικές βλάβες παρουσιάστηκαν στο νεφρό, τον προστάτη, τις σπερματοδόχους κύστες και την επιδιδυμίδα. Επίσης βρέθηκε μείωση της δράσης της αφυδρογονάσης του γαλακτικού οξέος (LDH) των όρχεων η οποία αποτελεί βιολογικό δείκτη της βλάβης αυτών (Yan H. et al., 1997, Agarwal A. et al., 1997).

Η χορήγηση CdCl₂ αναστέλλει τη δράση (περίπου κατά 90%) της μικροσωμικής Na⁺, K⁺, -ATPάσης των όρχεων τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Η χορήγηση αυτή προκαλεί μείωση της ανηγμένης και της ολικής γλουταθειόνης. Είναι δυνατό το CdCl₂ να προκαλέσει τοξικότητα στους όρχεις των επίμυων, αυξάνοντας το σχηματισμό ελευθέρων ριζών OH· και προκαλώντας μείωση της περιεχόμενης γλουταθειόνης και της δράσης της Na⁺, K⁺, -ATPάσης (Shen Y. et al., 1995).

Οι όρχεις των επίμυων είναι περισσότερο ευάλωτοι στην τοξικότητα του Cd από το ήπαρ. Το Cd είναι ικανό να προκαλέσει όγκους στα διάμεσα κύτταρα των όρχεων (Leydig) (McKenna IM. et al., 1996).

Η λήψη Cd μέσω πόσιμου νερού στους επίμυες προκαλεί μεγαλύτερη (κατά 4 φορές) επαγωγή της μεταλλοθειονίνης του Cd στους όρχεις σε σχέση με τη χορήγηση Cd μέσω έγχυσης. Το Cd μπορεί να προκαλέσει, μείωση του μεγέθους και του βάρους του προστάτη με ατροφία και μεταπλασίες καθώς επίσης και σχηματισμό λίθων στο νεφρό και την ουροδόχο κύστη (Ohta H. et al., 1997, Klare N. et al., 1978).

Η συνδυασμένη χορήγηση Pb και Cd μέσω του πόσιμου νερού σε επίμυες προκαλεί σημαντικές βλάβες στο σύστημα αναπαραγωγής. Η συνδυασμένη δράση

μειώνει το βάρος και το περιεχόμενο DNA των γονάδων. Στους όρχεις το Cd προκαλεί μείωση στη διάμετρο των σπερματοφόρων σωληναρίων ενώ ο Pb μειώνει τον αριθμό των σπερματογονίων (Corpas I. et al., 1998).

3.6 Εγκέφαλος

3.6.1 Cu – εγκέφαλος

3.6.1.α Τοξικότητα Cu

Στην νόσο Wilson όπου υπάρχει γενετική ανωμαλία μεταφοράς του Cu, προκαλείται μεγάλη συσσώρευση του μετάλλου και μειωμένη ικανότητα απέκκρισής του στη χολή. Ο Cu που συσσωρεύεται στα ηπατοκύτταρα προκαλεί βλάβη στον οργανισμό μέσω των δραστικών μορφών οξυγόνου. Η απελευθέρωση του Cu από τα νεκρά ηπατοκύτταρα οδηγεί σε βλάβες άλλων ιστών όπως του εγκεφάλου, του ουροποιητικού, των ενδοκρινικών αδένων, οστών και πολλών άλλων οργάνων και συστημάτων (Cuthbert JA., 1998).

3.6.1.β Έλλειψη Cu

Αρκετές έρευνες έχουν γίνει σε πειραματόζωα (κυρίως επίμυες) για τις επιπτώσεις που έχει η διαίτα με μειωμένα επίπεδα Cu στη λειτουργία του εγκεφάλου των ίδιων των πειραματόζωων αλλά και των απογόνων τους. Παρατηρήθηκε ότι ο εγκέφαλος των νεογνών αυτών ήταν μικρότερος σε μέγεθος και βάρος, ο φλοιός ήταν λεπτότερος και το ραβδωτό σώμα ήταν ατροφικό. Επίσης υπήρχε κενοτοπικός εκφυλισμός και συρρίκνωση των μιτοχονδρίων στο εξωπυραμιδικό σύστημα, βλάβες στους νευράξονες και διάλυση του ελύτρου μυελίνης. Οι βλάβες αυτές οφείλονται στην έλλειψη Cu και δεν μπορούν να αντιστραφούν με χορήγηση πρόσθετων συγκεντρώσεων Cu στη διαίτα. Η ανεπαρκής λήψη του Cu προκαλεί μείωση των επιπέδων Cu σε διάφορες περιοχές του εγκεφάλου των νεογνών καθώς και μείωση των επιπέδων των κατεχολαμινών (Prohaska JR. et al., 1994).

Μετρήσεις των συγκεντρώσεων Cu σε διάφορα μέρη του εγκεφάλου νεογνών επίμυων έδειξαν ότι υπάρχει μια μείωση στις συγκεντρώσεις του Cu κατά $20 \pm 3\%$ σε σχέση με την ομάδα των μαρτύρων σε όλες τις περιοχές του εγκεφάλου, εκτός του υποθάλαμου στον οποίο η μείωση του Cu ήταν πολύ μεγαλύτερη. Η ανάλυση με υγρή χρωματογραφία (HPLC) έδειξε επίσης σημαντικές μειώσεις κατά 39-67% των επιπέδων νορεπινεφρίνης στην παρεγκεφαλίδα, στο ραβδωτό σώμα, στο μυελό και στο μέσο εγκέφαλο (Prohaska JR. et al., 1994).

Οι απόγονοι επίμυων των οποίων οι μητέρες έλαβαν διαίτα με μειωμένη συγκέντρωση Cu εμφάνισαν μείωση των επιπέδων της ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα του εγκεφάλου και σημεία ανάλογα της νόσου του Parkinson. Οι συγκεντρώσεις ντοπαμίνης δεν αποκαθίστανται με θεραπευτικές δόσεις Cu και σχετίζονται με τις συγκεντρώσεις Cu στο ραβδωτό σώμα αλλά όχι και με τις γενικότερες συγκεντρώσεις Cu στον οργανισμό (π.χ. στο ήπαρ). Είναι επίσης δυνατό λόγω της έλλειψης Cu να εμφανιστεί και νευροπάθεια (O'Dell BL., 1993). Σε μια άλλη εργασία για να εκτιμηθεί η μοριακή βάση της νευροπαθολογίας από την έλλειψη Cu εξετάστηκε η σύνθεση των λιπιδίων του εγκεφάλου σε νεογνά επίμυων των οποίων οι μητέρες τους αλλά και τα ίδια είχαν διατροφή ελλιπή σε Cu. Μετρήθηκε η σύνθεση των λιπαρών οξέων των φωσφολιπιδικών κλασμάτων τμημάτων του εγκεφάλου και της μυελίνης. Η έλλειψη Cu μειώνει ελαφρώς τη συγκέντρωση της μυελίνης στην περιοχή του μεσεγκεφάλου

και αυξάνει το κλάσμα του λινελαϊκού οξέος τόσο στον εγκέφαλο όσο και στην απομονωμένη μυελίνη. Παρατηρήθηκε ότι περίπου το 50% των επίμυων που έπαιρναν διαίτα με ελλιπή Cu ανέπτυξαν σημεία της νόσου Parkinson και είχαν χαμηλά επίπεδα ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα (Sun SH. et al.,1992).

Έχει παρατηρηθεί ότι η έλλειψη Cu προκαλεί μείωση της δράσης της δισμουτάσης του υπεροξειδίου που περιέχει Cu-Zn στον εγκέφαλο και αντίστοιχη μείωση των επιπέδων της κατά 20-30% (Kimoto S. et al.,1995).

3.6.2 Zn – εγκέφαλος

3.6.2.α Τοξικότητα Zn

Ο Zn είναι από τα πιο απαραίτητα ιχνοστοιχεία για την ανθρώπινη βιολογία αλλά σε υψηλές συγκεντρώσεις, δυνατόν να καταστεί νευροτοξικός. Ο Zn εμπλέκεται σε διάφορες ασθένειες όπως η νόσος Alzheimer, η επιληψία και η εγκεφαλική ισχαιμία. Υπάρχουν στοιχεία για το θάνατο των νευρώνων λόγω απόπτωσης στην ασθένεια Alzheimer και έχουν γίνει πολλές έρευνες για το ρόλο του Zn σ' αυτή τη διεργασία. Το κύριο παθολογικό εύρημα της ασθένειας Alzheimer είναι η παρουσία υψηλής πυκνότητας αμυλοειδών πλακών στον εγκεφαλικό ιστό των ασθενών. Οι πλάκες αυτές αποτελούνται κύρια από τη βήτα - αμυλοειδή πρωτεΐνη, η νευροτοξικότητα του οποίου σχετίζεται πολύ με το ρυθμό συσσώρευσής του. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι μέταλλα όπως π.χ. Al, Fe, και Zn αναφέρονται ως παράγοντες πρόκλησης της ασθένειας Alzheimer και επίσης ότι επιφέρουν σημαντική συσσώρευση της βήτα - αμυλοειδούς πρωτεΐνης. Έχει παρατηρηθεί σε καλλιέργειες εγκεφαλικών κυττάρων ότι ενδοκυττάρειες συγκεντρώσεις κατιόντων Zn μεγαλύτερες από 10^{-14} M επιταχύνουν δραματικά το ρυθμό συσσώρευσης της βήτα - αμυλοειδούς πρωτεΐνης στους 37°C (Esler WP. et al.,1996).

Το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) περιέχει μεγάλες ποσότητες Zn, ένα σημαντικό μέρος του οποίου βρίσκεται εσωτερικά των συναπτικών κυστιδίων των γλουταμεργικών άκρων (glutamatergic) υπο μορφή χηλικών ενώσεων και απελευθερώνεται με τα δυναμικά δράσης των νευρώνων, μια διαδικασία που εξαρτάται από την παρουσία Ca^{+2} . Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι περίσσεια εκρέοντος Zn μπορεί να προκαλέσει ακόμη και το θάνατο νευρώνων επίμυων που υποφέρουν από παροδική ισχαιμία του πρόσθιου εγκεφάλου (Ahn YH. et al.,1998).

3.6.2.β Έλλειψη Zn

Η έλλειψη Zn σε πειραματικές συνθήκες στα ινδικά χοιρίδια και στα κοτόπουλα έχει σαν αποτέλεσμα την πρόκληση νευρολογικών επιπτώσεων όπως ανωμαλίες στη στάση και τη μετακίνηση. Τα ινδικά χοιρίδια εμφάνισαν υπερευαισθησία στο άγγιγμα και έδειξαν σημάδια πόνου στη μετακίνηση, ενώ παρατηρήθηκε μείωση στην ταχύτητα μετάδοσης σήματος στο ισχιακό νεύρο. Κλινικά συμπτώματα συσχετίζουν την έλλειψη Zn με περιφερική νευροπάθεια, η οποία αντιστρέφεται με προσθήκη Zn (O'Dell BL., 1993)

Είναι γνωστό ότι οι μεταλλοθειονίνες έχουν προστατευτικό ρόλο στο οξειδωτικό stress και στην παραγωγή ελευθέρων ριζών. Η έλλειψη Zn μπορεί να επηρεάσει τα επίπεδα των μεταλλοθειονινών και τα επίπεδα των mRNA τους στον εγκέφαλο. Επίσης έχουν παρατηρηθεί διαφορές στις συγκεντρώσεις Zn και των μεταλλοθειονινών σε διάφορες περιοχές του εγκεφάλου όπου φαίνεται να παίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην παρεμπόδιση της εκφύλισης λόγω ελευθέρων ριζών που

προέρχονται κυρίως από το σίδηρο (Ebadi M. et al., 1996).

Σε άλλες νευρολογικές διαταραχές όπου οι νευρώνες φαίνεται να πεθαίνουν λόγω απόπτωσης παρατηρείται ότι χηλοποιημένος Zn έχει ήδη συσσωρευτεί στο περικάρυο των νευρώνων ή συσσωρεύεται κατά τη διαδικασία της εκφύλισης. Ο Zn αλληλεπιδρά με ένζυμα και πρωτείνες καθώς και παράγοντες μεταγραφής οι οποίοι είναι σημαντικοί για την επιβίωση των κυττάρων και μπορεί να σχετίζονται με την διεργασία της απόπτωσης. Ως πιθανός μηχανισμός συμμετοχής του Zn στις νευροεκφυλιστικές βλάβες που προκαλούνται από stress διέγερσης ή/και οξειδωτικό φαίνεται να είναι η εναλλαγή της απελευθέρωσης Zn από συναπτικά κυστίδια και δέσμευσή του από το περικάρυο των νευρώνων του υπόκαμπου που έχει ήδη υποστεί βλάβες από ασθένειες του εγκεφάλου (Cuajungco MP. et al., 1998).

Σημαντικός είναι επίσης ο ρόλος του Zn στη διαμόρφωση της μυελίνης όπου ο Zn φαίνεται να αλληλεπιδρά με τη βασική πρωτεΐνη της μυελίνης (Tsang D. et al., 1997).

Ορισμένοι ερευνητές συνδέουν την έλλειψη ενδοκυττάρου Zn των ιστών του εγκεφάλου όχι μόνο με τη νόσο Alzheimer αλλά και με άλλες εκφυλιστικές νόσους όπως η γεροντική άνοια. Ερευνήθηκε κατά πόσον με τη βοήθεια χηλικών ενώσεων του ενδοκυττάρου Zn, μπορεί να προκαλέσει άμεσο θάνατο των νευρώνων σε καλλιέργειες φλοιϊκών κυττάρων επίμυων. Η τεχνητή αυτή έλλειψη Zn συνοδεύεται από διάφορα χαρακτηριστικά απόπτωσης όπως συρρίκνωση του κυτταροπλάσματος, συμπύκνωση και θρυμματισμό του πυρήνα και ρήξη του ενδοπυρηνικού DNA. Σε μεγαλύτερες ελλείψεις Zn προκαλείται θάνατος νευρογλοιακών κυττάρων. Φαίνεται ότι η μείωση του ενδοκυττάρου Zn προκαλεί σύνθεση πρωτεϊνών που επηρεάζουν τη νευρωνική απόπτωση στις καλλιέργειες φλοιϊκών κυττάρων. Ο συνδυασμός με ευρήματα άλλων ερευνητών που δείχνουν ότι ο εξωκυτταρικός Zn δυνατόν να ενισχύει την εξωκυττάρια συσσώρευση της βήτα - αμυλοειδούς πρωτεΐνης (A-beta) και ότι ο ιστικός Zn είναι μειωμένος στην ασθένεια Alzheimer, καθιστά πιθανό η ανακατανομή του Zn από τον ενδοκυττάριο στον εξωκυττάριο χώρο να δρα συνεργιστικά στην απόπτωση των νευρώνων στην ασθένεια Alzheimer (Ahn YH. et al., 1998).

3.6.3 Pb – εγκέφαλος

3.6.3.α Τοξικότητα Pb

Η έκθεση σε Pb είναι δυνατό να προκαλέσει διάφορες νευροψυχιατρικές διαταραχές σε παιδιά, ενώ χρόνια εργασιακή έκθεση μπορεί να οδηγήσει σε οξεία εγκεφαλοπάθεια. Οι επιπτώσεις του Pb φαίνεται να εξαρτώνται από την ακεραιότητα του αιματεγκεφαλικού φραγμού, κυρίως στους νεογέννητους επίμυες. Στους ενήλικους επίμυες που υφίστανται χρόνια τοξικότητα Pb παρατηρούνται εντονότερες παθολογικές αλλαγές που οφειλόμενες στις επιβλαβείς δράσεις του Pb (Hertz MM. et al., 1981).

Έχουν παρατηρηθεί βιοχημικές αλλαγές και καθυστέρηση στην ανάπτυξη της κατασκευής του εγκεφαλικού φλοιού σε νεογνά επίμυων, οι μητέρες των οποίων λάμβαναν Pb μέσω του πόσιμου νερού κατά την κύηση και το θηλασμό. Οι αλλαγές αυτές στην ανάπτυξη του εγκεφάλου συνοδεύονται από αλλαγές της συμπεριφοράς, και προβλήματα στην μάθηση, εμφανίστηκαν και καθυστερήσεις στην συναπτογένεση και στην ανάπτυξη της εξερευνητικής συμπεριφοράς (Bull RJ. et al., 1983). Επίσης και άλλα αποτελέσματα ερευνών δείχνουν ότι ο εγκέφαλος των νεαρών επίμυων είναι πιο ευαίσθητος στην έκθεση σε Pb σε σχέση με τον εγκέφαλο των ενηλίκων επίμυων ενώ

η συσσώρευση του Pb στον εγκέφαλο δεν επηρεάζεται από την ηλικία (Sihgh AK. et al., 1989).

Σε μια έρευνα εξετάστηκαν οι επιπτώσεις στον εγκέφαλο επίμυων που δέχθηκαν παρατεταμένη λήψη οξικού Pb μέσω του πόσιμου νερού. Παρατηρήθηκαν μορφολογικές και βιοχημικές επιδράσεις σε διάφορα μικροαγγεία του εγκεφάλου, επίσης υπήρχε σημαντική αύξηση του Pb στα τριχοειδή αγγεία και στα συναπτοσώματα των επίμυων. Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων φάνηκε επίσης ότι η συστηματική χορήγηση χαμηλών δόσεων Pb προκαλεί δυσλειτουργίες στον αιματεγκεφαλικό φραγμό (Struzynska L. et al., 1997).

Έχει βρεθεί ότι ο Pb δεσμεύεται στις μεμβράνες των μιτοχονδρίων του εγκεφάλου, τις οποίες διαπερνά και εισέρχεται στο οργανύλλιο. Ο Pb επιδρά στην οξειδωτική φωσφορυλίωση, στη μεταφορά της ντοπαμίνης και σχετίζεται με διαταραχές στην κίνηση, επίσης αναστέλλει τη χολινεστεράση του εγκεφάλου στους επίμυες και προκαλεί αλλαγές στην συμπεριφορά (Johnson FM., 1998).

3.6.4 Cd – εγκέφαλος

3.6.4.a Τοξικότητα Cd

Η έκθεση σε Cd είναι δυνατό να προκαλέσει αλλοιώσεις στα βασικά γάγγλια και να οδηγήσει σε νόσο του Parkinson. Τέτοιες περιπτώσεις έχουν αναφερθεί σε ασθενείς όπου η οξεία έκθεση σε Cd προκάλεσε αρχικά βλάβες σε πολλά όργανα και μετά την πάροδο περίπου 3 μηνών αναπτύχθηκαν χαρακτηριστικά της νόσου Parkinson (Okuda B. et al., 1997). Ορισμένοι ερευνητές εξέτασαν την συσσώρευση Cd και την έκφραση της μεταλλοθειονίνης σε εγκεφάλους ποντικών σε διάφορα στάδια ανάπτυξής τους. Εκτός από τους γνωστούς τύπους μεταλλοθειονίνης I και II που είναι ευρέως διαδεδομένοι, έχουν ανακαλυφθεί πρόσφατα και οι ισόμορφοι τύποι III και IV οι οποίοι έχουν περιορισμένη έκφραση και εξειδικευμένους ρόλους κύρια στον εγκέφαλο και στα κερατινικά επιθήλια. Η μεταλλοθειονίνη τύπου III (GIF) ανακαλύφθηκε αρχικά ως πρωτεΐνη με προφανείς επιδράσεις στις νευρορυθμίσεις και αυτές οι επιδράσεις δεν φαίνεται να έχουν σχέση με τις φυσικές μορφές τύπου I και II (Hidalgo J. et al., 1998).

Η συσσώρευση Cd προκάλεσε αύξηση στην έκφραση της μεταλλοθειονίνης III και του mRNA στα ενήλικα άτομα σε σχέση με τα νεαρά, ενώ δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην έκφραση της μετ/νίνης I και II. Η κατανομή του Cd φαίνεται να μειώνεται με την ηλικία καθώς οι εγκέφαλοι των πολύ νεαρών ποντικών περιείχαν 4 φορές περισσότερο Cd σε σχέση με τους ενήλικες. Τελικά υπήρχε μια αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης της μεταλλοθειονίνης και της συσσώρευσης Cd στον εγκέφαλο στα νεαρά άτομα (Choudhuri S. et al., 1996).

Οι Jin T. et al., 1998, διατύπωσαν την άποψη ότι εφόσον ο αιματεγκεφαλικός φραγμός συγκρατεί το Cd εκτός του κεντρικού νευρικού συστήματος (CNS) φαίνεται ότι οι νευροτοξικές επιδράσεις του Cd είναι δευτερογενείς. Η πρώτη κύρια δράση του Cd στην περιοχή του εγκεφάλου αφορά τον μεταβολισμό του Zn. Η νευροτοξικότητα που προκαλείται από το Cd φαίνεται να έχει άμεση σχέση με μηχανισμούς που επάγουν τη μεταλλοθειονίνη III του εγκεφάλου.



3.7 Πνεύμονες

3.7.1 Cu – πνεύμονες

3.7.1.α Τοξικότητα Cu

Δεν έχουν αναφερθεί περιπτώσεις όπου οι υψηλές συγκεντρώσεις του Cu, που για κάποιο λόγο έχουν βρεθεί στον οργανισμό, να επηρεάζουν την κανονική λειτουργία και τη φυσιολογία των πνευμόνων.

Πειραματική χορήγηση CuSO₄ σε επίμυες με ενδοτραχειακή ενστάλαξη, ανά τακτά χρονικά διαστήματα, προκάλεσε μεταβολές στη λειτουργία των πνευμόνων και με την πάροδο του χρόνου στον περιεχόμενο Cu, στην παραγόμενη μεταλλοθειονίνη καθώς και στις εκκρίσεις των φλεγμονωδών ουσιών από τους πνεύμονες. Εντοπίστηκαν κυτταρολογικά και βιοχημικά τοξικές επιπτώσεις από τη χορήγηση CuSO₄ στις φλεγμονώδεις απεκκρίσεις (ένζυμα, πρωτεΐνες και ιχνοστοιχεία) των κυψελίδων και των βρόγχων (Hirano S. et al., 1990).

Οι ίδιοι ερευνητές μελέτησαν την οξεία τοξικότητα που παρατηρείται στους πνεύμονες των επίμυων οι οποίοι έχουν εισπνεύσει αέρια σωματίδια οξειδίου του χαλκού (CuO) (το οποίο συναντάται ως αέριος ρύπος σε αρκετές βιομηχανικές δραστηριότητες). Το οξείδιο του χαλκού προκάλεσε αύξηση των μακροφάγων και των πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων, καθώς επίσης και βιοχημικού τύπου αντιδράσεις φλεγμονής, στα υγρά των κυψελίδων και των βρόγχων. Ειδικότερα παρατηρήθηκαν αυξήσεις των δράσεων της αφυδρογονάσης της λακτάσης, της βήτα-γλυκουρονιδάσης, αύξηση των πρωτεϊνών, του θείου(S) και του περιεχομένου ασβεστίου(Ca), ενώ παρατηρήθηκε μείωση του περιεχομένου φωσφόρου (P) (Hirano S. et al., 1993).

3.1.7.β Έλλειψη του Cu

Η έλλειψη Cu φαίνεται να προκαλεί αρκετές επιδράσεις στη λειτουργία των πνευμόνων πολλές φορές με σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία. Σε ένα πείραμα όπου εξετάστηκε η επίδραση της έλλειψης Cu στην ωριμότητα και ανάπτυξη των πνευμόνων στους νεογέννητους επίμυες, παρατηρήθηκε ότι στο 35% των νεογέννητων από μητέρες επίμυες που έπαιρναν διαίτα με χαμηλή συγκέντρωση Cu παρουσιάστηκε το σύνδρομο της αναπνευστικής δυσχέρειας (RDS). Ειδικότερα παρατηρήθηκαν ιστοανατομικές ατέλειες των πνευμόνων κυρίως αύξηση του πάχους της κυψελιδοτριχοειδικής μεμβράνης (φράγμα αέρος-αίματος) και ίσως αυτό αποτέλεσε τον κύριο λόγο εμφάνισης του συνδρόμου της αναπνευστικής δυσχέρειας (Sarricolea ML. et al., 1993).

Είναι γνωστό ότι η έλλειψη του Cu επηρεάζει το μεταβολισμό των ουδέτερων λιπιδίων, των φωσφολιπιδίων, των προσταγλανδινών και της δισμουτάσης του υπεροξειδίου του Cu-Zn. Ορισμένοι ερευνητές εξέτασαν τις αλλαγές στην κυτταρική μορφολογία πνευμονικών κυττάρων σε ινδικά χοιρίδια με διαίτα ανεπαρκή σε Cu και παρατήρησαν μεταβολές των εκκρίσεων των πνευμονικών κυψελίδων στις πρωτεΐνες, τα λιπίδια και το μεταβολισμό των μεμβρανών λόγω έλλειψης Cu (Richmond VL. et al., 1993).

Από άλλους ερευνητές εξετάστηκε η μορφή της ελαστίνης (που θεωρείται πολύ βασική για την κανονική κατασκευή των πνευμόνων) σε επίμυες με διατροφή χαμηλής περιεκτικότητας σε Cu. Παρατηρήθηκε ότι οι πνεύμονες των πειραματοζώων που είχαν έλλειψη Cu περιείχαν 17% λιγότερη ελαστίνη, και είχαν 35% μεγαλύτερη

κυψελιδική επιφάνεια (O'Dell BL. et al., 1978).

Μια άλλη σημαντική επίπτωση από την έλλειψη Cu είναι η μείωση της δράσης της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD) των πνευμόνων, καθώς και η μείωση της συγκέντρωσης της σεουλοπλασμίνης, πράγμα που κάνει τους πνεύμονες περισσότερο ευαίσθητους στις δραστικές μορφές οξυγόνου. Αντίθετα άλλοι ερευνητές παρατήρησαν σε επίμυες ότι παρά τη διαιτητική έλλειψη Cu, κατόρθωσαν να αυξήσουν τα επίπεδα της δισμουτάσης του υπεροξειδίου που περιέχει Cu-Zn, η οποία δρα προστατευτικά απέναντι στην υπεροξία που οδηγεί σε πνευμονικές βλάβες (πνευμονικό οίδημα, σχηματισμός κρυσταλλώδους μεμβράνης, μείωση του αριθμού των ουδετερόφιλων του πνεύμονα) (Richmond VL. et al., 1993, Taylor CG. et al., 1991).

3.7.2 Zn – πνεύμονες

3.7.2.α Τοξικότητα Zn

Πολλές αναφορές υπάρχουν για τις βλαβερές επιπτώσεις στην υγεία από την εισπνοή ατμών οξειδίου του Zn που προέρχονται κυρίως από την καύση του κάρβουνου. Έχει βρεθεί ότι η εισπνοή αυτών των ατμών μπορεί να προκαλέσει ανάλογα με τη δόση έκθεσης, αύξηση των κυτοκινών στις προ-φλεγμονώδεις εκκρίσεις, των πρωτεϊνών, των ουδετερόφιλων και των πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων του πνεύμονα. Επίσης παρατηρείται αύξηση των δράσεων της αγγειοτενσίνης, της αλκαλικής φωσφατάσης, της οξικής φωσφατάσης και της αφυδρογονάσης της λακτάσης των πνευμονικών υγρών, ενώ από ιστολογικές αναλύσεις φαίνεται φλεγμονώδης βλάβη των πνευμόνων (Conner MW. et al., 1988).

Οι ίδιοι ερευνητές σε προηγούμενη εργασία παρατήρησαν ότι οι ατμοί οξειδίου του Zn προκαλούσαν στα ινδικά χοιρίδια αύξηση του βάρους των πνευμόνων και μείωση της ολικής χωρητικότητας, της ζωτικής χωρητικότητας, του λειτουργικού υπολειμματικού όγκου και του όγκου των κυψελίδων (Conner MW. et al., 1985).

Σε ένα άλλο πείραμα εξετάστηκαν οι επιπτώσεις στους πνεύμονες των επίμυων, από την εισπνοή ατμών οξειδίου του Zn (ZnO) και την ενδοτραχειακή έγχυση ZnCl₂. Οι βλάβες στους πνεύμονες ήταν και στις δύο περιπτώσεις πνευμονικό οίδημα, κυψελίτιδα και σε προχωρημένο στάδιο ίνωση. Μετά από εισπνοή ZnCl₂ οι παθολογικές αλλοιώσεις επεκτείνονται ως την περιφέρεια του πνεύμονα ενώ η εισπνοή ατμών ZnO προκαλεί παθολογικές μεταβολές σε όλο τον οργανισμό (Brown RF. et al., 1990).

3.7.2.β Έλλειψη Zn

Είναι γνωστό ότι η έλλειψη Zn έχει γενικότερες επιδράσεις στη λειτουργία των συστημάτων του οργανισμού προκαλώντας διαταραχές και αλλαγές στο ρόλο πολλών ενζύμων. Σε μια μελέτη όπου εξετάστηκαν οι επιπτώσεις του Cu και του Zn της διαίτας στην παραγωγή ελευθέρων ριζών στα μικροσωμάτια των πνευμόνων και του ήπατος των επίμυων, φάνηκε ότι η διαίτα με χαμηλή περιεκτικότητα σε Zn αυξάνει την παραγωγή ελευθέρων ριζών στα μικροσωμάτια των πνευμόνων αλλά όχι και σ' αυτά του ήπατος (Kubow S. et al., 1986).

Σημαντική είναι επίσης η επίδραση της ανεπαρκούς λήψης Zn στην Cu-Zn δισμουτάση του υπεροξειδίου και στην επαγωγή των μεταλλοθειονινών του Zn, στους πνεύμονες, καθώς συνεπάγεται αντίστοιχα μειωμένη άμυνα απέναντι στην παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου και μεγαλύτερη συσσώρευση τοξικών μετάλλων (Cd, Pb)

με τη μορφή των Cd ή Pb-μεταλλοθειονινών αντί των Zn- μεταλλοθειονινών (Kubow S. et al., 1986).

3.7.3 Pb – πνεύμονες

3.7.3.α Τοξικότητα Pb

Είναι γνωστό ότι ο Pb έχει τοξικές επιδράσεις στον οργανισμό τόσο όταν εισέρχεται μέσω της γαστρεντερικής, όσο και μέσω της αναπνευστικής οδού. Έχουν γίνει πολλές έρευνες, κυρίως σε εργάτες που εκτίθενται σε εργασιακή ρύπανση διαφόρων μετάλλων μεταξύ των οποίων και Pb και έχουν παρατηρηθεί διάφορα παθοφυσιολογικά συμπτώματα όπως εμφύσημα, πνευμονοκονίωση και ενδοπαρεγχυματικές ινώσεις (Edel J. et al., 1990).

Αρκετοί ερευνητές έχουν διατυπώσει γενικότερα ότι η χρόνια έκθεση σε αδιάλυτα σωματίδια Pb μπορεί να οδηγήσει σε ανάπτυξη όγκων του πνεύμονα. Η εμφάνιση των όγκων γίνεται είτε όταν: η χωρητικότητα του πνεύμονα 'υπερφορτώνεται' σε σωματιδιακή ύλη και ξεπερνάται ο μηχανισμός δράσης των μακροφάγων είτε λόγω της άμεσης τοξικότητας των σωματιδίων με ανάπτυξη φλεγμονών, επιθηλιακή υπερτροφία και μεταπλασίες (Hexl PM., 1994).

Δείκτες για πιθανή βλάβη των πνευμόνων λόγω εισπνοής αερίων που περιέχουν μικρές ποσότητες μετάλλων είναι η κυτταρική εξίδρωση υγρού στις κυψελίδες του πνεύμονα, η συγκέντρωση των περιεχόμενων πρωτεϊνών όπως της αφυδρογονάσης του γαλακτικού, η δράση της N- ακετυλ-γλυκοζαμινιδάσης και η ολική αιμογλοβίνη. Τα εισπνεόμενα αέρια προκαλούν αύξηση της διάχυσης των ουσιών στις κυψελίδες καθώς και αύξηση της αφυδρογονάσης του γαλακτικού (LDH) (Kadavanti UP. et al., 1998).

Ορισμένοι ερευνητές εξέτασαν αν η επί μακρόν εισπνοή οξειδίου του Pb (PbO) σε συγκεντρώσεις κάτω από τα επιτρεπόμενα όρια έκθεσης σε εργάτες προκαλεί βλάβες στη λειτουργία των μακροφάγων, ο ρόλος των οποίων είναι να ενισχύουν την ανοσολογική άμυνα του πνεύμονα. Οι λειτουργίες των μακροφάγων συμπεριλαμβάνουν τη φαγοκυττάρωση, την παραγωγή ενδιάμεσων δραστικών μορφών οξυγόνου καθώς και τη βιολογική ενεργοποίηση του α - παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF- α). Έτσι, χορηγήθηκαν σε κουνέλια, $30\mu\text{g}/\text{m}^3$ PbO για 4 ημέρες και την 5^η ημέρα θανατώθηκαν και εξετάστηκαν οι πνεύμονές τους. Μετρήθηκαν επίσης, η δραστηριότητα της αφυδρογονάσης του γαλακτικού οξέος (δείκτης βλάβης στα κύτταρα του πνεύμονα) καθώς και η δράση της λυσοζύμης (δείκτης διαπερατότητας των λυσοσωμάτων) και βρέθηκαν σημαντικά αυξημένες 24 και 72 ώρες μετά την έκθεση. Παρατηρήθηκε ακόμη διήθηση των ουδετερόφιλων λόγω του PbO. Η εισπνοή του PbO οδήγησε σε αύξηση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2), αύξηση της ανιονικής ρίζας του υπεροξειδίου (O_2^-) καθώς και σε μεταβολές στον α - παράγοντα νέκρωσης όγκων (Zelikoff JT. et al., 1993).

Τελικά διαπιστώθηκε ότι οι πνεύμονες είναι ένας ευαίσθητος στόχος των τοξικών επιδράσεων του εισπνεόμενου Pb και φαίνεται ότι η εισπνοή αυτών των σωματιδίων ακόμη και σε επίπεδα μικρότερα από τα επιτρεπόμενα, σε εργασιακή έκθεση, προκαλεί αλλαγές στις λειτουργίες των μακροφάγων του πνεύμονα λόγω της άμυνας που αναπτύσσεται κατά των εισπνεόμενων αντιγόνων (Zelikoff JT. et al., 1993).



3.7.4 Cd – πνεύμονες

3.7.4.a Τοξικότητα Cd

* Η χρόνια εισπνοή Cd από το περιβάλλον εργασίας ή από τον καπνό των τσιγάρων σχετίζεται με το εμφύσημα, μια πάθηση που χαρακτηρίζεται από εκτεταμένη βλάβη του συνδετικού ιστού των πνευμόνων. Έχειδειχθεί ότι η χορήγηση Cd *in vitro*, σε μη κυτταροτοξικές δόσεις, αναστέλλει την παραγωγή πρωτοκολλαγόνου από τους ινοβλάστες και επίσης αναστέλλει τη σύνθεση της πρωτεογλυκάνης. Φαίνεται ότι το Cd μπορεί να παίζει ένα σημαντικό ρόλο στην παθογένεση του εμφυσήματος που σχετίζεται με τη χρόνια εισπνοή ατμών Cd, προκαλώντας αναστολή της παραγωγής πρωτεϊνών του συνδετικού ιστού (Chambers RC. et al., 1998).

Σε έρευνα που έγινε με αρσενικούς επίμυες που εκτέθηκαν σε αέρια σωματίδια Cd παρατηρήθηκε την 1^η εβδομάδα σημαντική αύξηση των πρωτεϊνών, της αφυδρογονάσης του γαλακτικού, της αλκαλικής και οξικής φωσφατάσης και των πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων. Τη 2^η εβδομάδα παρατηρήθηκαν κυτταρολογικές και βιοχημικές μεταβολές στον πνεύμονα, ενώ την 3^η εβδομάδα οι αλλαγές στον πνεύμονα ήταν μικρότερες ενώ η ιστολογία των πνευμόνων μετατράπηκε σε φυσιολογική λόγω αποθήκευσης του Cd στους πνεύμονες. Επίσης παρατηρήθηκε δέσμευση του Cd από τη μεταλλοθειονίνη των πνευμόνων και μεταφορά του μετάλλου στο ήπαρ και το νεφρό (Hart BA. et al., 1986).

Άλλοι ερευνητές έδειξαν την καρκινογόνο επίδραση του εισπνεόμενου και του χορηγούμενου Cd σε επίμυες, παρατηρώντας τις ιστολογικές αλλαγές στους πνεύμονες. Οι αλλαγές αυτές περιλάμβαναν διάχυτες περιοχές κατεστραμμένων κυψελίδων λόγω της στένωσης των βρογχιολίων αλλά και λόγω της αλλαγής του περιφερικού συνδετικού ιστού και οδηγούσαν σε εμφύσημα. Επίσης παρατηρήθηκε αύξηση του αριθμού των ενδοκυψελιδικών μακροφάγων, καταστροφή του επιθηλίου καθώς και δυσπλασία των κυψελίδων. Τελικά φάνηκε ότι η ενδοθωρακική χορήγηση Cd σχετίζεται με αύξηση της πιθανότητας ανάπτυξης πνευμονικού εμφυσήματος με δυσπλαστικές αλλαγές στο επιθήλιο των κυψελίδων του πνεύμονα (περιβρογχική φατνιακή δυσπλασία) (Farina J. et al., 1996, Kenada C. et al., 1996, Oberdorster G. et al., 1994).

3.8 Μυοσκελετικό σύστημα

3.8.1 Cu - μυοσκελετικό σύστημα

3.8.1.a Τοξικότητα Cu

Σε διάφορα πειράματα που έγιναν με χορήγηση περίσσειας Cu σε πειραματόζωα, παρατηρήθηκε αύξηση των συγκεντρώσεων Cu στο πλάσμα και το ήπαρ αλλά δεν παρουσιάστηκαν μεταβολές της συγκέντρωσης Cu στα οστά (Pearce SG, et al., 1998). Ο Cu σαν απαραίτητο ιχνοστοιχείο για τη σωστή ανάπτυξη και λειτουργία του μυοσκελετικού συστήματος, δεν φαίνεται να έχει βλαπτικές επιδράσεις κατά τη χορήγηση μεγάλων συγκεντρώσεων. Αντίθετα πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η αποθήκευση Cu στον οργανισμό μπορεί να δράσει ευεργετικά στην περίπτωση της οστεοπόρωσης (Yee CD. et al., 1995).

Ορισμένοι ερευνητές μελέτησαν σε καλλιέργειες μυϊκών κυττάρων τη χρήση Cu και παρατήρησαν ότι δεν επηρεαζόταν η εκλεκτικότητα των μεμβρανών των μυοκυττάρων αλλά αναστέλονταν η λειτουργία της αντλίας Na^+/K^+ γεγονός που

οδηγούσε σε αύξηση της συγκέντρωσης Na^+ και κατά συνέπεια αύξηση και της συγκέντρωσης του Ca^+ (Bender AA. et al.,1994).

3.8.1.β Έλλειψη Cu

Διάφοροι παράγοντες όπως η ηλικία, η διαίτα, οι ορμονικές διαταραχές και η εγκυμοσύνη επηρεάζουν την συγκέντρωση του Cu στους ιστούς. Αρκετοί ερευνητές έχουν σχετίσει την έλλειψη του Cu με τις βλάβες στα οστά και ιδιαίτερα με την οστεοπόρωση και την οστική πυκνότητα.

Μελέτες σε ομάδες επίμυων στις οποίες χορηγούνταν διάφοροι συνδυασμοί διαίτας με έλλειψη ή με περίσσεια Cu, έδειξαν ότι η έλλειψη Cu επιδεινώνει την οστεοπόρωση ενώ το πλεόνασμα Cu βοηθά στην ανακούφισή της. Σε θηλυκούς επίμυες, στους οποίους έγινε αφαίρεση των ωοθηκών και είχαν ταυτόχρονα έλλειψη σε Cu, προκλήθηκε οστεοπενία. Η οστεοπενία δε αυτή δεν αποκαθίστατο με την επαναφορά του Cu στα κανονικά επίπεδα (Yee CD. et al.,1995).

Επιδράσεις λόγω έλλειψης του Cu στα οστά αφορούν κυρίως το κολλαγόνο, του οποίου καθυστερείται η ανάπτυξη με συνέπεια τα οστά να είναι πιο εύθραυστα και με περισσότερες ανωμαλίες. Επίσης η έλλειψη Cu έχει σαν αποτέλεσμα περιορισμό του οστικού κύκλου ανασύνθεσης - αποδόμησης (turn-over) λόγω μειωμένης λειτουργικότητας οστεοβλαστών και οστεοκλαστών (O'Dell BL. et al.,1978).

Όσον αφορά τα μυϊκά κύτταρα και γενικότερα τη λειτουργία των μυών, δεν έχουν αναφερθεί σημαντικές επιδράσεις από την έλλειψη Cu.

3.8.2 Zn - μυοσκελετικό σύστημα

3.8.2.α Τοξικότητα Zn

Η μεγάλη συγκέντρωση Zn δεν έχει αναφερθεί να έχει τοξικές επιδράσεις στη λειτουργία και την κατασκευή των οστών και των μυών. Αντίθετα, έχει διαπιστωθεί από πολλούς ερευνητές ότι η παρουσία του Zn δρα προστατευτικά κατά της δράσης του Cd, και συγκεκριμένα ο Zn εμποδίζει τη συσσώρευση του Cd στα οστά και εμποδίζει την οστεογένεση που προκαλείται από το Cd (Kaji T. et al.,1990).

Η ανάπτυξη και η λειτουργία των μυϊκών κυττάρων δεν έχει αναφερθεί να επηρεάζεται από τη συσσώρευση Zn στον οργανισμό.

3.8.2.β Έλλειψη Zn

Είναι γνωστό ότι ο Zn, ως απαραίτητο ιχθυοστοιχείο, παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και το σχηματισμό των οστών (οστεογένεση). Ορισμένοι ερευνητές εξέτασαν τις επιδράσεις του Zn στους οστεοκλάστες των επίμυων. Οι οστεοκλάστες είναι υπερβολικά ευαίσθητοι στις συγκεντρώσεις Zn και παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στην επαναρρόφηση των οστών. Αυτές οι δράσεις του Zn είναι εκλεκτικές και δεν παρατηρούνται σε άλλα ιχθυοστοιχεία. Φαίνεται ότι ο Zn αποτελεί σημαντικό και εκλεκτικό αναστολέα για την *in vitro* επαναπορρόφηση των οστεοβλαστών (Moonga BS. et al.,1995).

Ακόμη, από άλλους ερευνητές έχει διαπιστωθεί ότι ο Zn ρυθμίζει την απελευθέρωση της καλσιτονίνης από το θυρεοειδικό αδένωμα και επηρεάζει την ανακύκλωση των οστών. Η έλλειψη Zn είναι δυνατό να έχει και άλλες επιδράσεις, όπως για παράδειγμα, κατά την χορήγηση Cd, προκαλούνται ιστολογικές αλλαγές στην οστεοποίηση και συγκεκριμένα ατροφίες στον οστικό ιστό, εκφυλίσεις και

οστεομαλακία (Kaji T. et al., 1990).

Η έλλειψη Zn στην προγενετική ανάπτυξη προκαλεί πολλές γενετικές ανωμαλίες σε όλα σχεδόν τα οργανικά συστήματα. Οι ανωμαλίες αυτές εκδηλώνονται αρκετά γρήγορα, κατά την 14^η ημέρα κύησης εμβρύων με ελλιπή διατροφή σε Zn παρατηρήθηκαν ανωμαλίες στο πρόσωπο και τα άκρα. Ακόμη και μετά από την 11^η ημέρα της κύησης, τα έμβρυα από τις μητέρες με έλλειψη Zn δείχνουν μικρότερη ανάπτυξη από τα κανονικά έμβρυα καθώς και αυξημένες ανωμαλίες του νευρικού συστήματος (Hurley L., 1976).

3.8.3 Pb - μυοσκελετικό σύστημα

3.8.3.α Τοξικότητα Pb

Η μεγαλύτερη αποθήκευση Pb στον οργανισμό, μετά από χρόνια έκθεση, γίνεται στα οστά. Περισσότερο από το 95% της συνολικής χωρητικότητας του ανθρώπινου σώματος σε Pb αποθηκεύεται στα οστά υπό την μορφή του σχετικά δυσδιάλυτου τριφωσφορικού άλατος.

Επιπλέον, οι ακριβείς μετρήσεις Pb των οστών δίνουν χρήσιμες πληροφορίες για το βαθμό έκθεσης σε Pb με την πάροδο των ετών (εξαιτίας της μεγάλης παραμονής του Pb στα οστά). Παράλληλα η συγκέντρωση Pb των οστών προσφέρει καλλύτερη εκτίμηση της χρόνιας τοξικότητας σε σχέση με την συγκέντρωση Pb στο αίμα που αποτελεί το μέτρο της πρόσφατης έκθεσης στο μέταλλο. Ο Pb των οστών είναι δυνατόν να λειτουργεί σαν προσωρινή αποθήκη απ' όπου το μέταλλο μπορεί να απελευθερωθεί και πάλι στον οργανισμό κάτω από ορισμένες συνθήκες προκαλώντας τοξικές δράσεις (π.χ. εγκυμοσύνη, πάροδος ηλικίας, ασθένειες των νεφρών, εμμηνόπαυση). Γενικά ο αποθηκευμένος στα οστά Pb κάτω από έντονες καταστάσεις έντασης (stress) μπορεί να επαναδιαλυθεί όπως το Ca^{+2} και είναι αντικείμενο πολλών επιδημιολογικών μελετών γιατί αποτελεί δείκτη συσσώρευσης του Pb, καθώς και πηγή πιθανών βλαβών της υγείας όπως υπέρταση, νεφροπάθεια, και διαταραχές αντίληψης και συμπεριφοράς. Επίσης είναι δυνατό να προκαλεί βλάβες-ανωμαλίες κατά την αναπαραγωγή-τοκετό (Hu H., 1998, Silbergeld EK. et al., 1993).

Σε έρευνα που έγινε, εξετάστηκαν οι επιπτώσεις από την έκθεση σε Pb σε θηλυκούς επίμυες στην ανάπτυξη του σκελετού τους αλλά και στους θηλάζοντες απογόνους. Η έκθεση σε Pb πριν τον τοκετό προκάλεσε μεγαλύτερη συσσώρευση Pb στην κνήμη των μητέρων επίμυων από ότι η έκθεση σε Pb μετά την εγκυμοσύνη, ενώ αντίθετα τα νεογνά των επίμυων που δέχονταν Pb πριν τον τοκετό είχαν μικρότερη επιβάρυνση στη συσσώρευση Pb στην κνήμη σε σχέση με αυτά που λάμβαναν Pb μέσω του θηλασμού μετά τον τοκετό. Επιπλέον εμφανίστηκε μείωση της συγκέντρωσης του ασβεστίου και του φωσφόρου στην κνήμη των νεογνών που εκτίθενται σε Pb, μείωση του σωματικού τους βάρους, καθώς και μείωση στην ανάπτυξη της ουράς. Ακόμη ο Pb βρέθηκε να σχετίζεται με την αύξηση των πλακών κατά τη χονδρογένεση (Hamilton JD. et al., 1994).

Η βασικότερη επίδραση του Pb στα οστά είναι η αναστολή της ανάπτυξης των αξονικών οστών καθώς και μια ιστομορφομετρική μείωση λόγω αύξησης της απορρόφησης και της πυκνομετρίας στη μάζα του οστού (Escrignano A. et al., 1997).

Σε ομάδες πειραματοζώων που έπαιρναν Pb μέσω της διαίτας, παρατηρήθηκαν μυοπάθειες εξαιτίας των χρόνιων δόσεων Pb, αύξηση της διαμέτρου σκέδασης των μυϊκών ινών και συχνότερη διχοτόμηση των ινών και των πυρήνων τους. Επίσης, υπήρχε μεγαλύτερη εξωκυτταρική απόθεση κολλαγόνου καθώς και συμπτώματα ίνωσης. Τα παραπάνω έδειξαν αντίδραση μυοπάθειας λόγω της χρόνιας χαμηλής

έκθεσης σε Pb καθώς δεν παρατηρούνται νευρογενείς βλάβες (Buchheim K. et al., 1998).

3.8.4 Cd - μυοσκελετικό σύστημα

3.8.4.α Τοξικότητα Cd

Το Cd έχει τοξικές επιδράσεις και σε μεγάλες δόσεις οδηγεί στην ανάπτυξη της ασθένειας Itai - Itai η οποία προκαλεί οστεομαλακία και ενισχύεται από την έλλειψη βιταμίνης D. Αρχικά συμπτώματα είναι πόνοι στις αρθρώσεις, λουμπάγκο και ανομοιομορφία στα οστά. Η χορήγηση βιταμίνης D ανακουφίζει τα συμπτώματα (Fergusson JE., 1990, Elinder CG., 1985).

Σε μία συγκριτική έρευνα μετρήθηκε η πυκνότητα των οστών σε άνδρες και γυναίκες που έπασχαν από την ασθένεια Itai-Itai καθώς και άλλων ασθενών που είχαν νεφρικές δυσλειτουργίες και ζούσαν σε μη ρυπασμένες περιοχές. Παρατηρήθηκε ότι η πυκνότητα των οστών, ήταν σημαντικά μικρότερη κυρίως στις γυναίκες που έπασχαν από την ασθένεια Itai-Itai σε σχέση με τους ασθενείς με νεφρικές δυσλειτουργίες που δεν ήταν εκτεθειμένοι σε ρύπους. Διαπιστώθηκε ότι η έκθεση σε Cd προκαλεί οστεοπενία ιδιαίτερα στις γυναίκες (Kido T. et al., 1989).

Το Cd φαίνεται να επηρεάζει απ' ευθείας το μεταβολισμό των οστών και τη δράση της αλκαλικής φωσφατάσης. Πολλοί ερευνητές για να εξακριβώσουν αυτές τις δράσεις του Cd εξέτασαν σε καλλιέργειες οστεοβλαστών τόσο τις επιδράσεις του Cd όσο και άλλων μετάλλων όπως Zn, Mn, Pb, Cu, Ni, και Hg. Παρατηρήθηκε ότι το Cd είχε την ισχυρότερη ανασταλτική επίδραση στη δράση της αλκαλικής φωσφατάσης σε σχέση με τα άλλα μέταλλα και φαίνεται ότι η συγκεκριμένη επίδραση προκαλούνταν αποκλειστικά από το Cd και δεν εξαρτιόταν από τυχόν βλάβες του κυττάρου. Επίσης η επεξεργασία των κυττάρων με Cd προκάλεσε σημαντική μείωση στα ενδοκυττάρια επίπεδα του Zn ενώ η προσθήκη Zn απέτρεψε την αναστολή της δράσης της αλκαλικής φωσφατάσης, ανέστειλε τη συσσώρευση Cd στα οστεοβλαστικά κύτταρα και εμπόδισε την *in vitro* διεγερτική επίδραση του Cd στην παραγωγή της προσταγλανδίνης E₂. Σημαντικά βλαπτική ήταν επίσης η ανασταλτική δράση του Cd στο σχηματισμό των αλάτων στους οστεοβλάστες (Suzuki Y. et al., 1989, Suzuki Y. et al., 1990).

Άλλοι ερευνητές εξέτασαν τις βιολογικές και βιοχημικές επιδράσεις από τη χορήγηση Cd στο μυελό των οστών των επίμυων και βρήκαν ότι υπήρχε σημαντική μείωση στη δράση της αλκαλικής φωσφατάσης και μείωση στη συγκέντρωση του περιεχομένου Ca. Τελικά διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση Cd αναστέλλει την οδό διαφοροποίησης των οστεοβλαστών και των χονδροβλαστών στο μυελό των οστών με απ' ευθείας επίδραση σε αυτά τα κύτταρα (Dohi Y. et al., 1993).



4. ΙΧΘΥΟΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟ - ΛΥΜΑΤΑ

4.1 Επεξεργασία αποβλήτων

Ένα τυπικό αστικό λύμα περιέχει, ιζήματα, λίπη, έλαια, αφρούς, παθογόνα βακτήρια, ιούς, άλατα, συστατικά φυκών, παρασιτοκτόνα, αδιάσπαστες οργανικές ενώσεις, βαρέα μέταλλα, και μια μεγάλη ποικιλία από επιπλέοντα υλικά (μπουκάλια, πλαστικά, ρούχα κ.α.). Η επεξεργασία αποβλήτων στις αντίστοιχες μονάδες σκοπό έχει να απομακρύνει όσο το δυνατόν περισσότερα από αυτά τα υλικά. Οι διάφορες μέθοδοι καθαρισμού των λυμάτων αποτελούν απομιμήσεις των διεργασιών που λαμβάνουν χώρα στη φύση υπό ευνοϊκές συνθήκες.

Στα χαρακτηριστικά που χρησιμοποιούνται για να περιγράψουν τα λύματα, περιλαμβάνονται, η θολερότητα (σε διεθνείς μονάδες θολερότητας), τα αιωρούμενα στερεά (mg/kg - ppm), ολικά διαλυμένα στερεά (ppm), η οξύτητα (συγκέντρωση ιόντων H^+ ή pH) και το διαλυμένο οξυγόνο (σε ppm O_2). Το βιοχημικά απαιτούμενο οξυγόνο (BOD) αποτελεί το μέτρο της συγκέντρωσης ουσιών που απαιτούν οξυγόνο για τις βιοχημικές διεργασίες τους. Οι σύγχρονες εφαρμογές επεξεργασίας λυμάτων χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: πρωτοβάθμια, δευτεροβάθμια και τριτοβάθμια επεξεργασία.

4.1.α Πρωτοβάθμιος ή μηχανικός καθαρισμός

Ο μηχανικός καθαρισμός εστιάζει κυρίως στην απομάκρυνση των μη διαλυτών υλικών όπως άμμος, λίπη και αφροί. Το πρώτο στάδιο στην πρωτοβάθμια επεξεργασία είναι ο διαχωρισμός των υλικών ανάλογα με το μεγεθός τους και αυτό γίνεται με εσχάρες και λεπτά κόσκινα. Στη συνέχεια τα λύματα οδηγούνται στην δεξαμενή παροχής και ομογενοποίησης για την εξισορρόπηση των διακυμάνσεων στην ποιότητα των λυμάτων και μετά οδηγούνται στην κατακάθιση ή καθίζηση όπου απομακρύνονται τόσο τα αιωρούμενα στερεά λόγω της βαρύτητας όσο και τα υλικά που επιπλέουν λόγω μικρότερου ή ίσου ειδικού βάρους με αυτό του νερού. Στο επόμενο στάδιο τα λύματα οδηγούνται σε κροκίδωση ή συσσωμάτωση όπου με προσθήκη χημικών γίνεται η απομάκρυνση των αιωρουμένων στερεών που δύσκολα καθιζάνουν (κολλοειδή) (Αγγελίδης Μ., 1996).

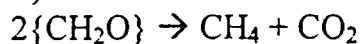
4.1.β Δευτεροβάθμια επεξεργασία με βιολογικές διεργασίες

Ο δευτεροβάθμιος ή βιολογικός καθαρισμός χρησιμοποιεί βιοχημικές αντιδράσεις για να απομακρύνει τις διαλυτές ή κολλοειδείς οργανικές ενώσεις. Ο καθαρισμός αυτός γίνεται με αερόβιους αλλά και με αναερόβιους μικροοργανισμούς. Υπάρχουν διάφορες τεχνικές βιολογικού καθαρισμού όπως οι δεξαμενές ενεργού ιλύος, τα συστήματα βιολογικής λεπτής στοιβάδας (βιολογικά διυλιστήρια ή φίλτρα), τα συστήματα αναερόβιας χώνευσης κ.α. Η επεξεργασία αυτή γίνεται είτε με βιολογική αποδόμηση των οργανικών ουσιών και στη συνέχεια απομάκρυνση των σχηματιζομένων αιωρημάτων με δευτεροβάθμια καθίζηση είτε σε ειδικές περιπτώσεις, με χημική υποστήριξη της αρχικής απλής καθίζησης με κροκίδωση σε συνδυασμό και με άλλες χημικές διεργασίες κυρίως για τα βιομηχανικά απόβλητα. Η δευτεροβάθμια επεξεργασία δίνει σε μεγάλο βαθμό οξειδωμένα προϊόντα (π.χ. NO_3^-) και αποτελεί συνήθως το τελικό στάδιο για αρκετές περιπτώσεις λυμάτων.

Μια από τις προϋποθέσεις επιτυχίας του βιολογικού καθαρισμού είναι η απόουσία τοξικών χημικών ουσιών που παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των

μικροοργανισμών αποδομητών. Έτσι τα κυανιούχα, οι χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες τα βαρέα μέταλλα κ.α. πρέπει να απομακρύνονται από τα λύματα πριν αυτά οδηγηθούν στον δευτεροβάθμιο καθαρισμό. Η δευτερογενής επεξεργασία μειώνει το BOD χρησιμοποιώντας διάφορες μεθόδους αλλά κυρίως μέσω εισαγωγής μικροοργανισμών οι οποίοι αφήνονται να αποσυνθέσουν την οργανική ύλη του διαλύματος ή των αιωρούμενων ώσπου το BOD των λυμάτων να μειωθεί σε ανεκτά επίπεδα. Τα λύματα οξειδώνονται βιολογικά κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες που επιτρέπουν τη βέλτιστη βακτηριακή ανάπτυξη και σε τέτοιο βαθμό ώστε να μην επηρεάζουν το περιβάλλον (Αλμπάνης Τ., 1994).

Η επεξεργασία με ενεργό ιλύς είναι από τις πιο ικανές και αποδοτικές επεξεργασίες των λυμάτων (εικ. 3). Μικροοργανισμοί στη δεξαμενή αερισμού μετατρέπουν την οργανική ύλη σε μικροβιακή βιομάζα και CO₂, το οργανικό άζωτο μετατρέπεται σε αμμωνιακό ιόν ή νιτρικά και ο οργανικός φώσφορος μετατρέπεται σε ορθοφωσφορικά. Ο μικροβιακός πληθυσμός σχηματίζεται ως μέρος της διεργασίας αποδόμησης των λυμάτων και παραμένει στην δεξαμενή αερισμού για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα (ώσπου οι μικροοργανισμοί να ξεπεράσουν τη λογαριθμική φάση της αναπτυξής τους), μετά από αυτό το σημείο τα κύτταρα σχηματίζουν συσσωματώματα που καθιζάνουν με σχετική ευκολία. Ένα μέρος από αυτά τα στερεά ανακυκλώνεται και έρχεται σε επαφή με τα νέα λύματα ενώ ένα άλλο μέρος από αυτά απομακρύνεται από τις δεξαμενές. Ο συνδυασμός της υψηλής συγκέντρωσης δραστικών κυττάρων στην ανακυκλοφορούμενη ιλύ και της μεγάλης περιεκτικότητας σε τροφή των εισρεομένων λυμάτων παρέχει τις βέλτιστες συνθήκες για ταχεία αποδόμηση της οργανικής ύλης. Η διεργασία της ενεργού ιλύος παρέχει δύο οδούς για την απομάκρυνση του BOD, η πρώτη είναι με οξείδωση της οργανικής ύλης που παρέχεται ως ενέργεια για τις μεταβολικές διεργασίες των μικροοργανισμών και η δεύτερη είναι με τη σύνθεση - ενσωμάτωση της οργανικής ύλης στο εσωτερικό των κυττάρων. Στην πρώτη οδό ο άνθρακας απομακρύνεται ως αέριο, με την μορφή CO₂ ενώ στη δεύτερη οδό έχουμε απομάκρυνση του άνθρακα ως στερεό της βιομάζας. Η διάθεση της λάσπης των λυμάτων αποτελεί σημαντικό πρόβλημα λόγω του ότι καταλήγουν σ' αυτή πολλές βλαβερές ουσίες και σε πολύ μεγάλες συγκεντρώσεις (εικ.3). Η λάσπη αυτή συνήθως ξηραίνεται και γίνεται αναερόβια πέψη με μεθανοβακτήρια που παράγουν μεθάνιο και CO₂ (Manahan S., 1994).



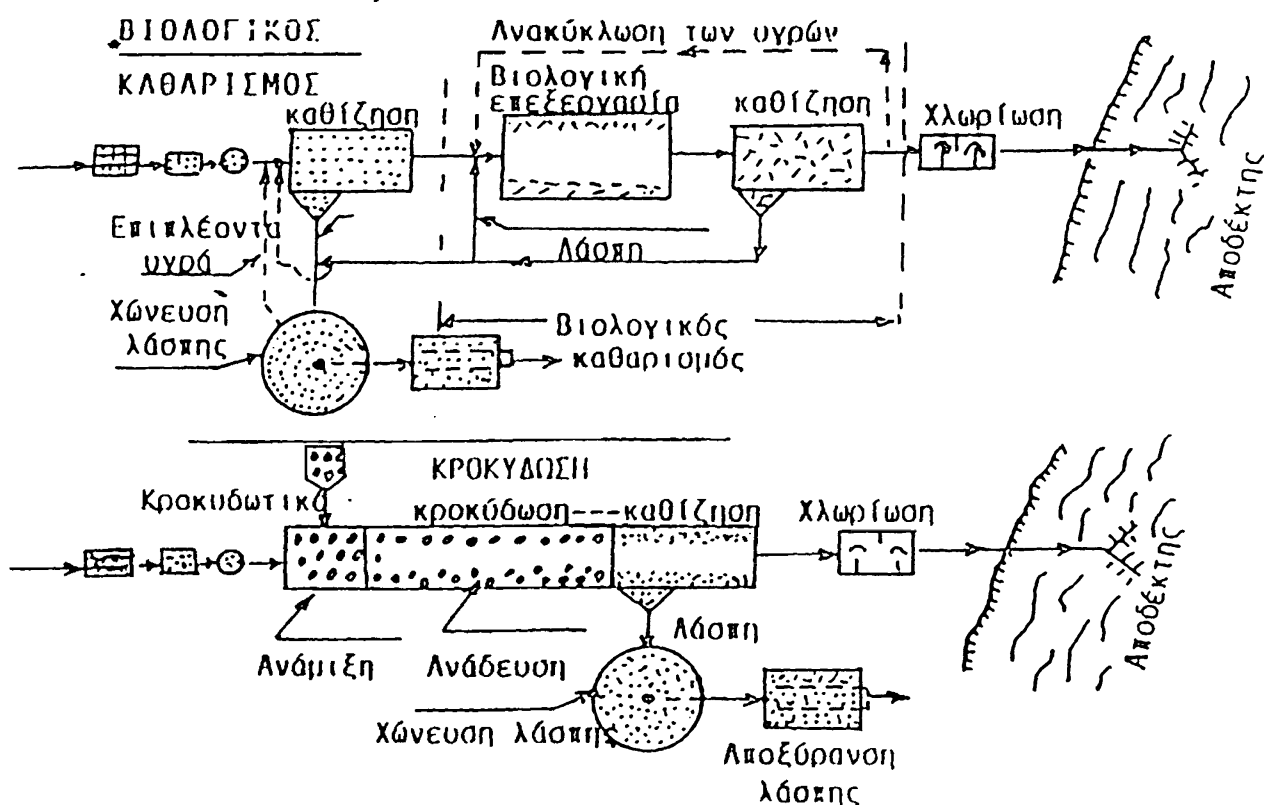
Η διαδικασία αυτή ελαττώνει την περιεχόμενη πτητική οργανική ύλη αλλά και τον όγκο της λάσπης περίπου κατά 60%. Από τις πιο επιθυμητές χρήσεις της λάσπης είναι η χρησιμοποίηση της ως εδαφοβελτιωτικό, όμως πρέπει να υπάρχει προσοχή ώστε αυξημένα επίπεδα βαρέων μετάλλων να μην εισέρχονται μέσω της απόθεσης της λάσπης στα εδάφη (Manahan S., 1994).

Η ελάττωση του ρυπαντικού φορτίου (BOD₅, αιωρούμενα στερεά, κολοβακτήρια) κατά τον δευτεροβάθμιο καθαρισμό (σε συνδυασμό με τον πρωτοβάθμιο) είναι κατά μέσον όρο της τάξης του 80 - 90%. Για τον πλήρη καθαρισμό των λυμάτων και αποβλήτων, ώστε να είναι επιτρεπτή η ανακύκλωση του νερού για βιομηχανική ή αρδευτική χρήση σε κηπευτικά είναι απαραίτητη η τριτοβάθμια βαθμίδα επεξεργασίας (Αλμπάνης Τ., 1994).

4.1.γ Τριτοβάθμιος ή χημικός καθαρισμός

Τα εκρεόμενα λύματα από μια δευτεροβάθμια επεξεργασία περιέχουν 300 - 400 mg/l περισσότερα ανόργανα συστατικά από το νερό ύδρευσης έτσι γίνεται φανερό ότι

μια 100% χρησιμοποίηση αυτού του νερού χωρίς απομάκρυνση των ανόργανων συστατικών μπορεί να προκαλέσει συσσώρευση βλαβερών παραγόντων σε οργανισμούς που το καταναλώνουν. Η τριτοβάθμια επεξεργασία είναι μια διεργασία που εφαρμόζεται στα εκρεόμενα λύματα δευτεροβάθμιας επεξεργασίας, οι ρύποι που απομακρύνονται σε αυτήν την επεξεργασία είναι (1) τα αιωρούμενα στερεά, (2) οι διαλυμένες οργανικές ουσίες (3) τα διαλυμένα ανόργανα συστατικά. Κάθε μια από αυτές τις κατηγορίες προκαλεί ιδιαίτερα προβλήματα στην ποιότητα του νερού. Τα αιωρούμενα στερεά είναι υπεύθυνα για τις τιμές BOD που υπάρχουν στις εκροές της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας, τα διαλυμένα οργανικά είναι τα πιο επικίνδυνα για πρόκληση τοξικότητας, ενώ από τα διαλυμένα ανόργανα συστατικά τα πιο επικίνδυνα είναι τα διαλυμένα μέταλλα τα οποία είναι συνδεδεμένα με τα νιτρικά και τα φωσφορικά.



Εικόνα 3: Απεικόνιση επεξεργασίας κατά τον δευτεροβάθμιο βιολογικό καθαρισμό

Εκτός από τους παραπάνω ρύπους τα εκρέοντα λύματα μπορεί να περιέχουν και μικροοργανισμούς ικανούς να προκαλούν διάφορες ασθένειες στον άνθρωπο, όταν αυτός έρχεται σε επαφή με το νερό. Μεταξύ των βακτηρίων που μπορεί να βρεθούν στην εκροή της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας είναι οργανισμοί που προκαλούν φυματίωση, βακτήρια που προκαλούν δυσεντερίες (*Bacillus dysenteriae*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella paradysenteriae*, *Proteus vulgaris*), βακτήρια που προκαλούν χολέρα (*Vibrio cholerae*), βακτήρια που προκαλούν ικτεροαιμορραγική νόσο (*Leptospira icterohemorrhagiae*) και βακτήρια που προκαλούν τυφοειδή πυρετό (*Salmonella typhosa*, *Salmonella paratyphi*). Ακόμη μπορεί να περιέχονται ιοί που προκαλούν διάρροια, μολύνσεις των ματιών, λοιμώδη ηπατίτιδα και πολιομυελίτιδα (Manahan S., 1994).

Σε όλα τα παραπάνω στάδια επεξεργασίας μπορεί να εφαρμοστεί η χλωρίωση στην εκροή περιοδικά ή μόνιμα αν κριθεί απαραίτητο και εξαρτάται από τη φύση των αποβλήτων (νοσοκομειακά) ή των ειδικών χρήσεων του αποδέκτη (ύδρευση, αλιεία

οστρακοειδών, κολύμβηση, άρδευση κ.α.) Η χλωρίωση μειώνει το μικροβιακό φορτίο σε πολύ μεγάλο ποσοστό και σε μικρότερο ποσοστό τις οργανικές ουσίες (Κουϊμτζής Θ., 1987).

4.2 Στοιχεία περιεχόμενων βλαπτικών παραγόντων στο υγρό λύμα

Η πέψη της οργανικής ύλης γίνεται με αναερόβιες διεργασίες και γίνεται σε δύο φάσεις, στο πρώτο στάδιο κοινά αναερόβια και ικανά βακτήρια αποσυνθέτουν σύμπλοκα οργανικά σε οξέα, αλδεΐδες και κετόνες και στη συνέχεια τα προϊόντα της πρώτης φάσεως ζυμώνονται προς CO₂ και μεθάνιο με τα αναερόβια βακτήρια μεθανίου. Την μεγαλύτερη σημασία στην όλη διεργασία παίζουν οι οργανισμοί του μεθανίου γιατί:

- η ολοκλήρωση της συνολικής αντίδρασης φανερώνεται με τον σχηματισμό τελικών αερίων προϊόντων.
- το COD (χημικά απαιτούμενο οξυγόνο) των λυμάτων ελαττώνεται μόνο μέσα από την παραγωγή CH₄
- Τα βακτήρια μεθανίου είναι πιο ευαίσθητα σε μικρές αλλαγές περιβαλλοντικών συνθηκών όπως pH και θερμοκρασία σε σχέση με τα βακτήρια που σχηματίζουν οξέα.

Η βέλτιστη λειτουργία της διεργασίας παρατηρείται μόνο όταν οι περιβαλλοντικές συνθήκες είναι ιδανικές, έτσι εκτός από το pH και την θερμοκρασία, διάφορα κατιόντα παίζουν βασικό ρόλο. Έχειδειχθεί ότι διάφορα ιχνοστοιχεία π.χ. Mo, Fe, Cu, Mn απαιτούνται για να είναι επιτυχημένες αρκετές ενζυματικές αντιδράσεις, αλλά έχει βρεθεί ότι η μείωση των νιτρικών από τα βακτήρια της ενεργού ύλης μπορεί και αναστέλλεται ύστερα από αύξηση των συγκεντρώσεων Cd ή και Cu. Γενικότερα η τοξική δράση των μετάλλων όσον αφορά την μείωση - αποδόμηση των νιτρικών επηρεάζεται από παράγοντες όπως, οι μορφές των μετάλλων, το pH, ο περιεχόμενος φωσφόρος, η οργανική ύλη που υπάρχει και την παρουσία άλλων μετάλλων. Η ύπαρξη αυτών έχει συνεργική δράση ενώ η πιο τοξική μορφή του μετάλλου είναι το ελεύθερο μεταλλικό ιόν (Waara K. et al., 1992).

Σε πιλοτικές μονάδες επεξεργασίας λυμάτων που δεχόταν ένα συνδυασμό από 4 μέταλλα (Cr, Cu, Ni, Zn) παρουσιάστηκε μια αναστολή της νιτροποίησης και δεν υπήρχε κανένα στοιχείο ανοχής των νιτροποιητικών οργανισμών στα μέταλλα. Το οξυγόνο που απαιτήθηκε για την πέψη αυτής της ύλης ήταν κατά πολύ λιγότερο από της αντίστοιχης πιλοτικής μονάδας ελέγχου, διότι δεν καταναλώθηκε οξυγόνο για την μετατροπή της αμμωνίας σε νιτρικά. Συνεπώς μια μονάδα που δέχεται αρκετά μεγάλη ποσότητα μετάλλων θα αποβάλλει τη μεγαλύτερη ποσότητα αζώτου και ιδιαίτερα με την μορφή της αμμωνίας με αποτέλεσμα να χρειαστούν μεγαλύτερες ποσότητες χλωρίου κατά την έξοδο και μεγαλύτερες συγκεντρώσεις διαλυμένου οξυγόνου κατά την έκκρισή τους στους τελικούς αποδέκτες (Waara K. et al., 1992, Barth EF. et al., 1965).

Ένας μεγάλος αριθμός εργασιών έχει δείξει τις μεταλλαξιογόνες δράσεις διαφόρων ουσιών των αστικών λυμάτων. Το ενδιαφέρον για την έκκριση μεταλλαξιογόνων ουσιών στο περιβάλλον εστιάζεται στα χημικά τα οποία προκαλούν ζημιά στο DNA των γεννητικών κυττάρων και μπορεί να αυξήσουν τις πιθανότητες της κληρονομικής μετάλλαξης και των γενετικών δυσλειτουργιών και είναι δυνατόν να προκαλέσουν καρκίνο. Έρευνες έχουν δείξει ότι υπάρχει υψηλή συσχέτιση καρκίνου από χημικά λόγω της μετάλλαξης κυττάρων καθώς και πρόκλησης καρκίνου σε πειραματόζωα. Επίσης αυτές οι μεταλλαξιογόνες ουσίες παίζουν ρόλο και στην πρόκληση άλλων ασθενειών όπως αθηροσκλήρωση, καταράκτη καθώς και διάφορες

μεταπλασίες. Η μεταλλαξιγόνο δράση ήταν πιο εμφανής στα εκχυλίσματα λυμάτων που δέχονται και βιομηχανικά απόβλητα. Η απομάκρυνση της δράσης αυτών των ουσιών στις μονάδες επεξεργασίας αποβλήτων ποικίλει από καθόλου έως περίπου τα 2/3 αυτής που υπάρχει στα αρχικά λύματα. Αυτό δείχνει ότι η κύρια ποσότητα της μεταλλαξιγόνο δράσης στα αρχικά λύματα σχετίζεται με ένα μικρό κλάσμα οργανικών ουσιών που είναι παρόν (Fergusson J., 1990, Becking GC, 1976).

4.2.1 Χλωρίωση - τοξικότητα του Cl

Η χλωρίωση των λυμάτων που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις οργανικών και αμμωνίας απαιτεί υψηλές δόσεις χλωρίου (5-20 mg/l) για να γίνει πλήρης απολύμανση. Το υπολλειματικό χλώριο μετά την χλωρίωση μπορεί να έχει τοξικές επιδράσεις στα ψάρια και στους άλλους οργανισμούς. Το κύριο ενεργό υποπροϊόν αυτής της διεργασίας είναι οι-μονοχλωραμίνες και τα οργανοχλωριωμένα που είναι μεν σε πολύ μικρότερες ποσότητες αλλά είναι επικίνδυνα λόγω της μεγάλης παραμονής τους και του μεταλλαξιγόνο χαρακτήρα τους. Η φύση των χλωραμινών εξαρτάται από το pH και από τον λόγο (R) της συγκέντρωσης του χλωρίου προς την συγκέντρωση της αμμωνίας, με pH:6.5 - 8.0 και $R < 1$ έχουμε άμεσο σχηματισμό μονοχλωραμινών, ακόμη πιο γρήγορα από τις μονοχλωραμίνες σχηματίζονται οι οργανικές χλωραμίνες. Στις συνθήκες των μονάδων επεξεργασίας αποβλήτων δεν είναι δυνατόν να γίνει αποδόμηση μονοχλωραμινών, έχουν ανιχνευθεί χλωρο-οργανικά στα αστικά λύματα σε υψηλές δόσεις χλωρίου (4000 mg/l), μερικά από αυτά ήταν τριαλογονομεθάνια, χλωριωμένοι αρωματικοί υδρογονάνθρακες, χλωρο-οξέα και χλωροφαινόλες, επίσης αυτά τα υποπροϊόντα ανιχνεύθηκαν και με μικρότερες δόσεις χλωρίου (μερικά mg/l).

Η επεξεργασία των δευτεροβάθμιων λυμάτων με χλώριο δεν φαίνεται να έχει σημαντική επίδραση στη δράση των μεταλλαξιγόνο ουσιών ενώ αντίθετα φαίνεται αύξηση της μεταλλαξιμότητας κατά τη χλωρίωση του πόσιμου νερού λόγω των αντιδράσεων των υπάρχοντων χουμικών ενώσεων με τα ιόντα Cl. Μια πιθανή εξήγηση γι' αυτό το γεγονός είναι ότι τα υψηλά επίπεδα NH₃ που υπάρχουν στα λύματα ανταγωνίζονται το Cl με αποτέλεσμα το σχηματισμό σημαντικών ποσοτήτων ανόργανων χλωραμινών σε σχέση με την παραγωγή οργανοχλωριωμένων (Meier JR. et al., 1985).

Η παρουσία τους στην τελική εκροή δείχνει ότι έχουν μεγάλη αντοχή στη βιοχημική αποδόμηση και φαίνεται να είναι πολικές, μη-βιοδιασπώμενες οργανικές ουσίες καθώς και μείγματα μη-ιοντικών και επιφανειακά δραστικών ουσιών που ήδη προϋπάρχουν στα λύματα (εξαιτίας της μη επαρκούς επεξεργασίας των αποβλήτων) ή προϊόντα που δημιουργούνται κατά τη διαδικασία της βιοχημικής αποδόμησης (Schroder HF., 1991).

Έχουν παρουσιαστεί αρκετά σοβαρές επιπτώσεις στους οργανισμούς λόγω ύπαρξης των μεταλλαξιγόνο υποπροϊόντων. Έτσι, παρατηρούνται επιδράσεις στην ανάπτυξη και ιδίως στο προνυμφικό στάδιο οργανισμών που είναι αρκετά ευαίσθητοι: τα αυγά των ψαριών παρουσιάζουν μορφολογικές ανωμαλίες, ενώ στα φυτά εμφανίζεται μείωση της φωτοσύνθεσης και της αναπνοής, επίσης στα ψάρια φάνηκαν ανατομικές ανωμαλίες και βιοχημικές αλλαγές στην κατασκευή των βραγχίων λόγω της μη φυσιολογικής ολοκλήρωσης των επιθηλιακών κυττάρων που έχουν σαν συνέπεια να προκαλούνται βλάβες στις εκλεκτικές μεμβράνες. Τα βράγχια είναι πιο ευαίσθητα εξαιτίας της απ'ευθείας έκθεσης με το νερό και λόγω των λειτουργιών ανταλλαγής (αναπνοή, αποβολή, ωσμωτική ρύθμιση), η επιφάνειά τους και τα επιθήλια είναι λεπτά και όχι καλά προστατευμένα με αποτέλεσμα να είναι εκτεθειμένα στις οξειδωτικές ενώσεις. Όμοια έχουν παρατηρηθεί και τροποποιήσεις στη σύνθεση του αίματος των

παριών: μείωση του pH του αίματος, μετατροπή του λόγου αιμογλοβίνη προς μεθαιμογλοβίνη, διακοπή της μεταφοράς οξυγόνου ενώ η διατήρηση των απαιτήσεων σε ενέργεια η οποία γίνεται μέσω μεταφοράς γλυκογόνου από το ήπαρ προκαλεί υπερδραστηριότητα του ήπατος και οδηγεί σε εκφυλισμό των ηπατικών κυττάρων (Abarnou A. et al., 1992).

4.2.2 Παρουσία μετάλλων στα λύματα

Οι αυξημένες συγκεντρώσεις μετάλλων στα λύματα μπορεί να αποτελούν οικολογική απειλή και κίνδυνο από τη χρήση αυτού του νερού. Επίσης η μεγάλη περιεκτικότητα της λάσπης σε μέταλλα μπορεί να διαταράξει την αναερόβια πέψη και καθιστά επικίνδυνη τη μακρόχρονη χρήση της στη γεωργία. Η μη επαρκής αποδοτικότητα απομάκρυνσης μετάλλων από τις μονάδες επεξεργασίας αστικών λυμάτων οφείλεται σε δύο λόγους: α) στο υψηλό ποσοστό των οργανικών ενώσεων μεγάλου μοριακού βάρους οι οποίες είναι δύσκολο να απομακρυνθούν και β) στην αναστολή των βιολογικών δραστηριοτήτων που προκαλούνται λόγω της παρουσίας βαρέων μετάλλων.

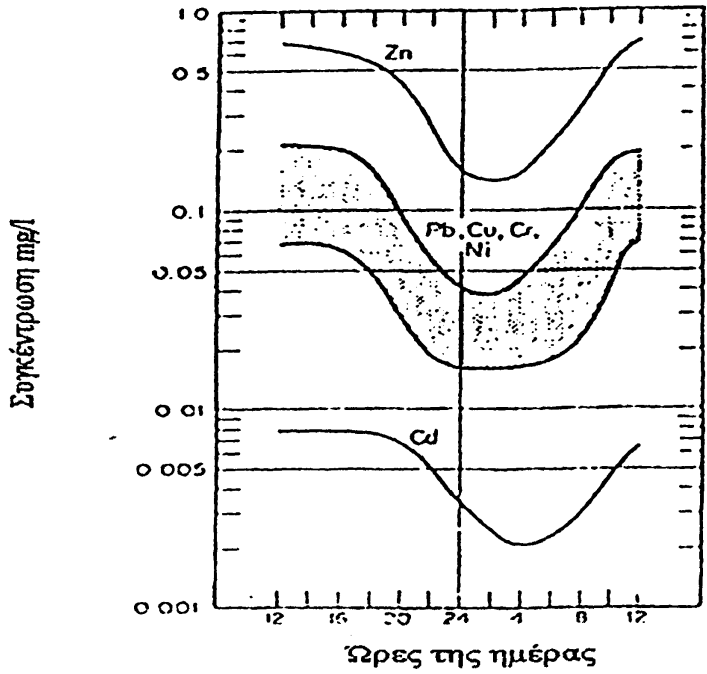
Έχουν μετρηθεί από πολλούς ερευνητές οι συνεισφορές σε βαρέα μέταλλα τόσο των αστικών όσο και των βιομηχανικών μονάδων από διάφορες περιοχές στο ολικό φορτίο των μετάλλων που υπάρχουν στα λύματα των υπονόμων (πιν. 11).

Πιν.11 Συνεισφορά βαρέων μετάλλων μόνο από οικιστικά και βιομηχανικά λύματα σε mg/κάτοικο/ημέρα (Jenkins D. et al., 1994).

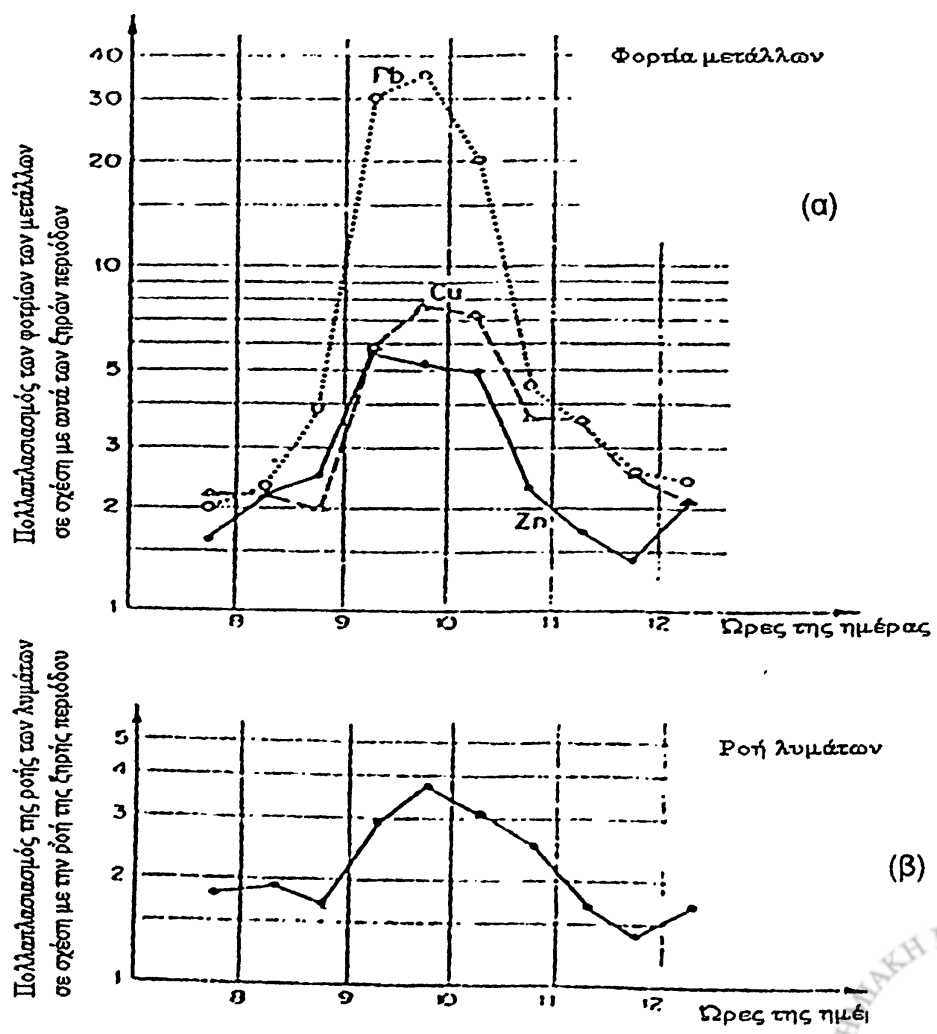
| Μέταλλο | Οικιστικά λύματα | | Βιομηχανικά λύματα | |
|------------------|------------------|------------|--------------------|------------|
| | Εύρος συγκεντρ. | Μέσος όρος | Εύρος συγκεντρ. | Μέσος όρος |
| Cd | 0.059-2.2 | 0.61 | 0.054 - 7.3 | 1.9 |
| Cr ⁺⁶ | 0.33-1.3 | 0.88 | 0.1-36 | 7.8 |
| Cu | 1.2-47 | 11 | 2.8-83 | 37 |
| Pb | 1.9-6.1 | 3.5 | 0.71-50 | 19 |
| Ni | 0-1.3 | 0.54 | 0.45-36 | 13 |
| Hg | 1.1-3.8 | 2.4 | 0.03-0.4 | 0.18 |
| Zn | 0.61-57 | 24 | 13-180 | 68 |

Οι Roberts P., et al. από το 1977 βρήκαν ότι οι ποσότητες των μετάλλων στις εισροές των αστικών λυμάτων είναι 3-5 φορές μεγαλύτερες την ημέρα από αυτές της νύχτας (εικ.4) και οι συγκεντρώσεις ορισμένων μετάλλων (π.χ. του Pb) αυξάνουν σημαντικά όταν ο καιρός είναι υγρός ως αποτέλεσμα των ατμοσφαιρικών κατακρημνίσεων (εικ. 5α,β). Οι συγκεντρώσεις των μετάλλων των αστικών λυμάτων που εισέρχονται στις μονάδες επεξεργασίας αποβλήτων είναι περίπου 0.5 - 22 mg/l για τον Zn, 0.05 - 0.82 mg/l για τον Pb, 0.09 - 0.5 mg/l για τον Cu, 0.03 - 0.3 mg/l για το Cr, 0.04 - 0.9 mg/l για το Ni, ενώ για το Cd είναι περίπου 0.07 mg/l (Roberts P. et al., 1977, Davis JA. et al., 1975, Keenan J. et al., 1984).





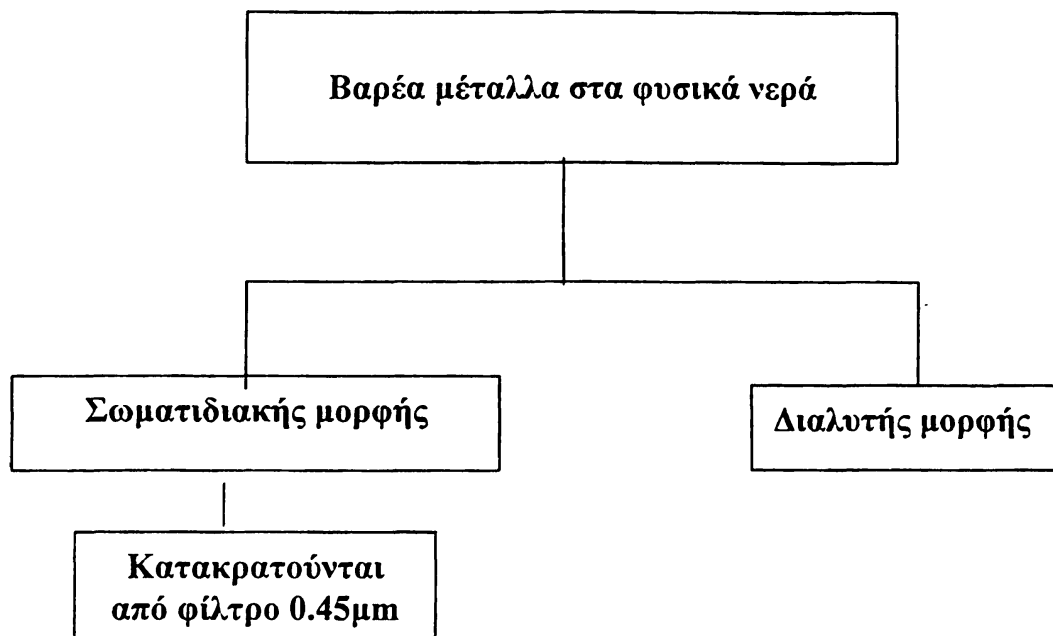
Εικόνα 4 Συγκεντρώσεις μετάλλων σε μή επεξεργασμένα αστικά λύματα
 Οι συγκεντρώσεις των μετάλλων στα αστικά απόβλητα ξεπερνά την αναμενόμενη διακύμανση για όλα τα μέταλλα που εξετάστηκαν. Οι συγκεντρώσεις είναι 3 με 5 φορές υψηλότερες κατά την διάρκεια της ημέρας από ότι την νύχτα.



Εικόνα 5 Αλλαγές λόγω εισροών νερών της βροχής



4.2.3 Μορφές μετάλλων στα φυσικά νερά

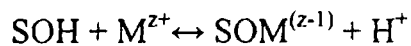


Τα μέταλλα στα φυσικά νερά υπάρχουν ως ελεύθερα ιόντα, ανόργανα σύμπλοκα, οργανικά σύμπλοκα (λόγω σχηματισμού χηλικών ενώσεων), ενωμένα με υψηλού μοριακού βάρους οργανικό υλικό, υψηλά διασπαρμένα κολλοειδή, προσροφημένα σε κολλοειδή και καθιζάνοντα σε οργανικά μέρη. Η βιολογική διαθεσιμότητα και οι τοξικές επιδράσεις αλλά και η κινητικότητα και η διάλυση των μετάλλων στο νερό σχετίζονται με τη χημική τους μορφή (πιν. 12)(Harrison R. et al., 1980, Stumm W. et al., 1973).

Πιν. 12: Εύρος μορφών βαρέων μετάλλων στα νερά σύμφωνα με το μέγεθος (Harrison R.M., et al., 1980)

| μέγεθος (μm) | 1 | | 10 | | 10 | 100 |
|------------------|------------------------|---|-------------------|---|---|--|
| | Διαλυτά | | Κολλοειδή | | | Σωματιδιακά |
| ενώσεις μετάλλων | ελευθ. Μεταλλικά ιόντα | ανόργανα ιονικά ζεύγη οργανικοί χηλιοποιητές | οργανικά σύμπλοκα | μέταλλα ενωμένα με μεγάλο MB org. υλικό | μέταλλα Προσροφημένα σε κολλοειδή | μετ. ενωμένα με οργανικά υλικά που παραμένουν σε ζωντ. Οργ. Ορυκτά μετ. προσροφ. σε στερεά καθιζάνοντα συνκαθιζά-ν |
| παράδειγματα | Pb ⁺² | PbHCO ₃ ⁺ Pb-EDTA | Pb-φουλβικό οξέα | Pb-χουμικά οξέα | Pb-Fe(OH) ₃ Pb-MnO ₂ | Pb-οργ.Στερεά Pb-άργυλλος PbCO _{3(s)} |

Σε πολλά υδάτινα περιβάλλοντα η τύχη των μεταλλικών ιόντων ρυθμίζεται από τις αντιδράσεις προσρόφησης και επαναπορρόφησης που λαμβάνουν χώρα μεταξύ των υδάτινων διαλυμάτων των υλικών όπως των οξειδίων Fe/Al και των υδροξειδίων. Το θεωρητικό μοντέλο προσρόφησης των μετάλλων είναι :



SOH : περιοχή οξειδίου με ελαφρά επικράτηση των πρωτονίων

M : κατιονική προσροφημένη ουσία και

z : σθένος

* Από την παραπάνω αντίδραση φαίνεται καθαρά ο ρόλος του pH όπου με αύξησή του ή με αύξηση της συγκέντρωσης SOH αυξάνεται η προσρόφηση των κατιόντων. Σε αυξημένο pH έχουμε σημαντική καθίζηση των υδροξειδίων των μετάλλων, ενώ σε χαμηλό pH έχουμε μεγαλύτερη αλληλεπίδραση μεταξύ μετάλλων και οργανικών (Cheng-Fang Lin et al., 1992, Cheng MH. et al., 1975).

4.2.4 Μορφές μετάλλων στα λύματα

Η κατανομή των μετάλλων στην τελική εκροή λυμάτων των μονάδων επεξεργασίας βασίζεται κυρίως στις οργανικές αλληλεπιδράσεις οι οποίες έχουν διαλυτική επίδραση κυρίως στο Cd και τον Cu αλλά όχι και στον Fe, Pb (που συνδέεται με το κλάσμα των >12μm) (πιν. 13). Η αποδοτικότητα απομάκρυνσης των μετάλλων στις μονάδες επεξεργασίας των λυμάτων είναι Fe>Pb>Cu>Cd>Mn (εξαρτάται από τη συγγένεια των μετάλλων με τα σωματίδια (flocks) των βιολογικών φίλτρων ή με την ενεργό ύλη). Όταν τα τελικά λύματα εισέρχονται στο ρεύμα ενός ποταμού, το κύριο ποσοστό των μετάλλων συνδέεται στο κολλοειδές και στο σωματιδιακό κλάσμα (Gardiner J. et al., 1974, Suzuki M. et al., 1979). Γενικότερα τα ποσοστά των μετάλλων που προστίθενται από τις εκροές και συνδέονται με αυτό το κλάσμα είναι: 55% για το Cd, 65% για τον Cu και 97% για τον Pb. Μετά την είσοδο τους στο ποτάμι και λόγω των αλλαγών που μπορεί να συμβαίνει στις χημικές τους μορφές, μπορούν να γίνουν περισσότερο βιοδιαθέσιμα στους οργανισμούς. Για παράδειγμα το Cd που είναι πιθανώς συνδεδεμένο με τις σωματιδιακές χουμικές ουσίες των αιωρούμενων σωματιδίων η προσρόφησης του από τα ιζήματα (>0.45μm), σε μη ρυπασμένα νερά, εξαρτάται πολύ από το pH, αυξάνει από 5-95% σε pH πάνω από 7-8. Ο Cu προσροφάται στα στερεά και δείχνει συγγένεια με τα χουμικά οξέα (Laxen D. et al., 1981, Murray CN. et al., 1974).

Έχει παρατηρηθεί χαμηλή απομάκρυνση Cd στις μονάδες επεξεργασίας κυρίως λόγω της υψηλής διαλυτότητας των ιόντων Cd σε pH: 7 - 9, καθώς και στη μεγάλη διαθεσιμότητα άλλων μεταλλικών ιόντων που βρίσκονται σε αυξημένη συγκέντρωση και σχηματίζουν αδιάλυτα σύμπλοκα με τις λάσπες των λυμάτων. Η σειρά διαλυτότητας για ορισμένα μέταλλα είναι Pb<Cu<Cd<Ni. Ο Pb έχει ισχυρότερη προσροφητική/ιονοανταλλακτική συγγένεια για αργιλώδη και υδροξείδια του Fe σε σχέση με το Cu, Cd (μεγαλύτερη συγγένεια του Pb για ανόργανα στερεά) (Laxen D. et al., 1981, Brown HG. et al., 1973).



Πιν. 13: Κλασματικός καταμερισμός των Cd,Pb,Cu,Fe και Mn σε τελικό λύμα. (Laxen D. et al.,1981).

| Μέγεθος κλάσμ.(μm) | Συγκέντρωση (μg/lit) | | | | |
|--------------------|----------------------|---------|----------|---------|--------|
| | Cd(%) | Pb(%) | Cu(%) | Fe(%) | Mn(%) |
| >12 | 28(20) | 6.3(20) | 11.5(32) | 405(58) | 10(13) |
| 1-12 | 5(4) | 0.4(3) | -- | 58(8) | -- |
| 0.4-1 | -- | 2.7(22) | -- | 43(6) | -- |
| 0.08-0.4 | 34(24) | 1.6(13) | 5.1(14) | 101(15) | -- |
| 0.015-0.08 | 10(7) | -- | 2.2(6) | 56(8) | 3(4) |
| <0.015 | 62(45) | 1.2(10) | 17(47) | 30(4) | 65(83) |
| Άθροισμα | 139 | 12.2 | 35.8 | 693 | 77 |

Είναι επίσης γνωστό ότι τόσο τα απορρυπαντικά όσο και γενικότερα τα καθαριστικά, οι οικιακής χρήσης ουσίες (π.χ. λευκαντικά) περιέχουν αρκετά σημαντικές ποσότητες ιχνοστοιχείων οι οποίες συνεισφέρουν στο ολικό φορτίο των μετάλλων στα οικιστικά απόβλητα. Βρέθηκε ότι το 13% του ολικού περιεχομένου As είχε σαν πηγή τα καθαριστικά προϊόντα, ενώ η συνεισφορά για τα άλλα μέταλλα (Cd,Cr,Cu,Pb,Hg, Ni,Ag,Zn) ήταν γύρω στο 2% (Jenkins D. et al., 1994).

Τα υγρά λύματα περιέχουν διάφορους ισχυρούς συμπλοκοποιητικούς --ή χηλιοποιητικούς παράγοντες όπως π.χ το αιθυλενο-διαμινο-τετραοξικό οξύ (EDTA) (έχει πολλές βιομηχανικές χρήσεις), το νιτριλοτριοξικό οξύ (NTA), το τριπολυφωσφορικό νάτριο (STPP) (χρησιμοποιούνται στα απορρυπαντικά) επίσης φουλβικά και χουμικά οξέα. Έχει παρατηρηθεί ότι τα μέταλλα έχουν υψηλότερη συγγένεια με το EDTA και το NTA απ' ότι με τη βιομάζα της λάσπης και συνεπώς η παρουσία αυτών των ενώσεων στα αρχικά λύματα αυξάνει την αρχική διαλυτότητα των μετάλλων και κατά συνέπεια επηρεάζει σημαντικά τις αποδόσεις απομάκρυνσής τους π.χ. υψηλή διαλυτότητα Cu και Pb σε μεγάλα φορτία NTA που είχαν σαν συνέπεια αύξηση των συγκεντρώσεων Pb στις τελικές εκροές (Jenkins D. et al., 1994, Laxen D. et al.,1981, Stoveland S.et al.,1979, Cheng MH.et al., 1975).

4.2.5 Απομάκρυνση μετάλλων

Ο μηχανισμός της κροκκίδωσης έχει αναφερθεί ότι απομακρύνει τα μέταλλα ως καθιζάνοντα, με ανεξάρτητη εναπόθεση ή με φυσική παγίδευση από τα συσσωματώματα της λάσπης του βιολογικού καθαρισμού, ενώ τα μέταλλα που βρίσκονται σε μορφή ιόντων απομακρύνονται με προσρόφηση στα εξωκυτταρικά πολυμερή των βακτηριδίων. Τα ιόντα των μετάλλων μπορούν επίσης να συσσωρεύονται στο κυτταρόπλασμα των βακτηριακών κυττάρων ή μπορεί να προσροφούνται απευθείας από το κυτταρικό τοίχωμα. Οι εισροές πολύ επιβαρημένων λυμάτων προκαλούν διαταραχές στην κανονική επεξεργασία και μπορούν να οδηγήσουν σε χαμηλής ποιότητας εκροές (Brown MJ. et al., 1979).

Η απομάκρυνση των βαρέων μετάλλων στις μονάδες επεξεργασίας γίνεται με χημική ή ηλεκτροστατική δέσμευση αυτών από τη λάσπη των λυμάτων στα διάφορα στάδια της επεξεργασίας. Οι ποσότητες των μετάλλων που δεν απομακρύνονται εισέρχονται κατευθείαν μέσω των τελικών εκροών στα υδάτινα συστήματα. Υπάρχουν δύο στάδια απομάκρυνσης μετάλλων από τα λύματα, το πρωταρχικό γίνεται με τη μηχανική επεξεργασία (απομακρύνονται κυρίως τα μη διαλυτά ή αυτά που είναι

προσροφημένα σε σωματίδια), ενώ η μεγαλύτερη απομάκρυνση γίνεται κατά τη φάση της ενεργού ιλύος (δευτερογενή επεξεργασία) με προσρόφηση στα κροκιδώματα της λάσπης των διαλυμένων μετάλλων ή των λεπτών συσσωματωμάτων. Έχει βρεθεί ότι τα στοιχεία Cd, Hg, Cr, Cu, Pb απομακρύνονται αποδοτικότερα κατά το στάδιο της ενεργού ιλύος παρά κατά την πρωτοβάθμια επεξεργασία. Κατά τη σύγκριση ορισμένων μονάδων επεξεργασίας ενεργού ιλύος βρέθηκε ότι τα μέταλλα Fe, Cu, Cr, Zn έχουν μεγαλύτερα ποσοστά απομάκρυνσης (25 - 88%), ενώ τα Ni, Cd, Mn, Ca, Mg, Pb έχουν τα μικρότερα ποσοστά απομάκρυνσης (11 - 65%) (πίν. 14, 15) (Keenan J. et al., 1984, Brown HG. et al., 1973).

Πιν. 14: Απομάκρυνση μετάλλων(%) σε μηχανική - βιολογική επεξεργασία (Roberts P. et al., 1977)

| Μέταλλο | % αποδοτικότητα απομάκρυνσης | |
|---------|------------------------------|----------------------------------|
| | Μηχανική επεξεργασία | Μηχανική - Βιολογική επεξεργασία |
| Cr | 40 | 70 |
| Zn | 35 | 60 |
| Cu | 40 | 55 |
| Cd | 30 | 35 |
| Pb | 50 | 65 |
| Ni | 35 | 45 |

Πιν. 15: Συγκεντρώσεις μετάλλων και ποσοστά απομάκρυνσής τους στις τελικές εκροές (Keenan J. et al., 1984).

| Μέταλλο | Συγκ. στην εκροή (mg/l) | % απομάκρυνση |
|---------|-------------------------|---------------|
| Cr | 0.07 | 73.1 |
| Cu | 0.11 | 72.5 |
| Fe | 2.7 | 99.2 |
| Pb | 0.12 | 83.3 |
| Hg | 0.004 | 27.4 |
| Ni | 0.75 | 57.4 |
| Zn | 0.53 | 97.3 |

Μια άλλη άποψη είναι ότι η συγκράτηση των μετάλλων δεν είναι ένα βιολογικό φαινόμενο αλλά μια φυσικο-χημική διεργασία που αφορά τις επιφανειοδραστικές ικανότητες των συσσωματωμάτων της λάσπης.

Παράγοντες που επηρεάζουν την απομάκρυνση μετάλλων με την ενεργό ιλύ:

- λειτουργικές παράμετροι της μονάδας.
- ηλικία και όγκος της ιλύος.
- απομάκρυνση αιωρουμένων στερεών.
- επίπεδα διαλυμένου οξυγόνου και χρόνος παρακράτησης.
- η θερμοκρασία και το pH.
- η συγκέντρωση και η διαλυτότητα των μετάλλων.
- η συγκέντρωση των παραγόντων συμπλοκοποίησης.
- το μέγεθος των σωματιδίων.



Η τοξικότητα των μετάλλων στα βακτήρια της ενεργού ιλύος προκαλεί: μείωση του αριθμού τους, αύξηση του BOD, αύξηση του COD, θολερότητα της τελικής εκροής, αναστολή των ενζύμων της ιλύος, αναστολή της νιτροποίησης. Η σειρά μετάλλων που προκαλούν τοξικότητα στα βακτήρια των λυμάτων είναι: $Hg > Ag > Cr^{+3} > Al > Fe > Cu > Ni > Cd > Co > Cr^{+6} > Sn > Zn$ η ποικιλομορφία τοξικότητας στα φυσικά νερά συμβαίνει κυρίως ως αποτέλεσμα αλλαγής της ιοντικής δραστηριότητας είτε μέσω καθίζησης ή σχηματισμού συμπλόκων. Πολλοί ερευνητές έδειξαν ότι μια μικρή αύξηση στη συγκέντρωση ενός μετάλλου απαιτείται για να προκληθεί μια σημαντική μείωση στην απόδοση της επεξεργασίας λυμάτων. Σε μια εργασία που γινόταν παρατήρηση των συγκεντρώσεων Cu και της συγκέντρωσης COD βρήκαν ότι για συγκέντρωση Cu: 0.4 mg/l δεν είχαμε αύξηση του COD των λυμάτων, ενώ για συγκέντρωση Cu: 1.2 mg/l είχαμε σημαντική αύξηση του COD, υπολογίστηκε ότι η συγκέντρωση Cu: 1 mg/l αποτελεί το κατώφλι (threshold dose). Όμοια υπολογίστηκαν και τα άλλα επίπεδα συγκεντρώσεων των μετάλλων (κατώφλι) τα οποία παρέχουν μια σημαντική αύξηση των συνηθισμένων παραμέτρων αποδοτικότητας μιας μονάδας επεξεργασίας αστικών λυμάτων (Brown MJ. et al., 1980, Barth EF. et al., 1970, Bailey DA. et al., 1970).

Σε μια έρευνα με πλοτικές μονάδες ενεργού ιλύος παρατηρήθηκε ότι το μεγαλύτερο ποσοστό απομάκρυνσης Cd, Cr, Cu, Fe, και Pb (σε ποσοστό >70%) λαμβάνει χώρα ιδιαίτερα κατά τη φάση της ενεργού ιλύος. Η απομάκρυνση του As είναι 19% ενώ τα Ca, Mg φαίνεται να παραμένουν ανεπηρέαστα. Η απομάκρυνση του Zn είναι 63% του Ni 60% και του Mn 39%. Σε σύγκριση των περιεχομένων βαρέων μετάλλων βρέθηκε ότι η πρωτοβάθμια ιλύς περιέχει 10-15% των μετάλλων που εισέρχονται στη μονάδα επεξεργασίας ενώ η ενεργός ιλύς περιέχει περίπου το 30% των συνολικών μετάλλων, ο μέσος όρος απομάκρυνσης των δεκατριών μετάλλων ήταν 42% (βασισμένος σε υπολογισμούς του ισοζυγίου μάζας) (πιν.16). Σε μονάδες διαφόρων τύπων οι οποίες δεχόταν λύματα διαφόρων προελεύσεων (π.χ. οικιστικά, αγροτικά, βιομηχανικά), η μεγαλύτερη απομάκρυνση παρατηρήθηκε σε δευτεροβάθμια μονάδα ενεργού ιλύος (~85%) ενώ σε μονάδα πρωτοβάθμιας επεξεργασίας ήταν (~62%). Γενικότερα υπήρχαν διαφορές όσον αφορά την απομάκρυνση μεταξύ των μετάλλων (Πιν. 17) (Brown HG. et al., 1973, Petrusek AC. et al., 1983, Laxen D. et al., 1981).

Πιν. 16: Επίπεδα απομάκρυνσης μετάλλων σε κάθε φάση του Βιολ. καθαρισμού (Laxen D. et al., 1981)

| Μέταλλο | Απομάκρυνση (%) | | |
|---------|-----------------|--------------|------------------|
| | Πρωτ. Καθίζηση | Ενεργός ιλύς | Βιολογικό φίλτρο |
| Cd | 72 | 50 | |
| Cu | 70 | 71 | 59 |
| Pb | 73 | 67 | 70 |
| Fe | | 86 | 62 |
| Mn | | 17 | |

Cd: λόγω του ότι το ολικό φορτίο του Cd ήταν μικρό (έως 24 $\mu\text{g}/\text{lt}(\text{ppb})$) δεν μπορούσε να γίνει σωστή ερμηνεία σε ποιο είδος μονάδας απομακρύνεται αποδοτικότερα. Η απουσία σημαντικών απομακρύνσεων του μετάλλου οφείλεται στην υψηλή διαλυτότητα των ιόντων Cd^{+2} καθώς και αρκετών συμπλεγμάτων του λόγω της τιμής του pH της επεξεργασίας των λυμάτων (pH: 7-9). Επίσης ένας άλλος λόγος είναι η

μεγάλη διαθεσιμότητα - επάρκεια άλλων μετάλλων σε μεγαλύτερη συγκέντρωση που σχηματίζουν σταθερά αδιάλυτα σύμπλοκα με συστατικά των λασπών των λυμάτων.

Cr: η απομάκρυνση του Cr από τις πρωτοβάθμιες μονάδες είναι 27% ενώ στις δευτεροβάθμιες 58%, στις πιλοτικές μονάδες η απομάκρυνση του Cr ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματική κυρίως για το Cr⁺⁶. Στις μονάδες ενεργού ιλύος τα μικροβιακά φορτία προσροφούν όλες τις μορφές Cr που βρίσκονται στα αιωρούμενα μέρη και επίσης μειώνουν το διαλυμένο Cr⁺⁶. Στις τελικές εκροές το Cr βρίσκεται κυρίως με τη μορφή που δεν καταβυθίζεται. Τελικά φαίνεται να γίνεται καλύτερη απομάκρυνση του Cr στις δευτεροβάθμιες επεξεργασίες που χρησιμοποιούν ενεργό ιλύ (78% απομάκρυνση).

Cu: όπως και για το Cr οι προηγούμενες πιλοτικές μονάδες έδειξαν μεγαλύτερη απομάκρυνση του ολικού Cu στη δευτεροβάθμια επεξεργασία (63%) απ'ότι στην πρωτοβάθμια (42%), πιθανότατα λόγω της προσρόφησης των ενώσεων Cu στο μικροβιακό φορτίο της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας.

Pb: η απομάκρυνση του Pb είναι πιο αποδοτική στη δευτεροβάθμια επεξεργασία (55%) ενώ στις πρωτοβάθμιες μονάδες είναι μικρότερη (46%). Η απομάκρυνση του Pb αυξάνει με την παρατεταμένη παραμονή των λυμάτων καθώς και με το μέγεθος των σωματιδίων (flocs).

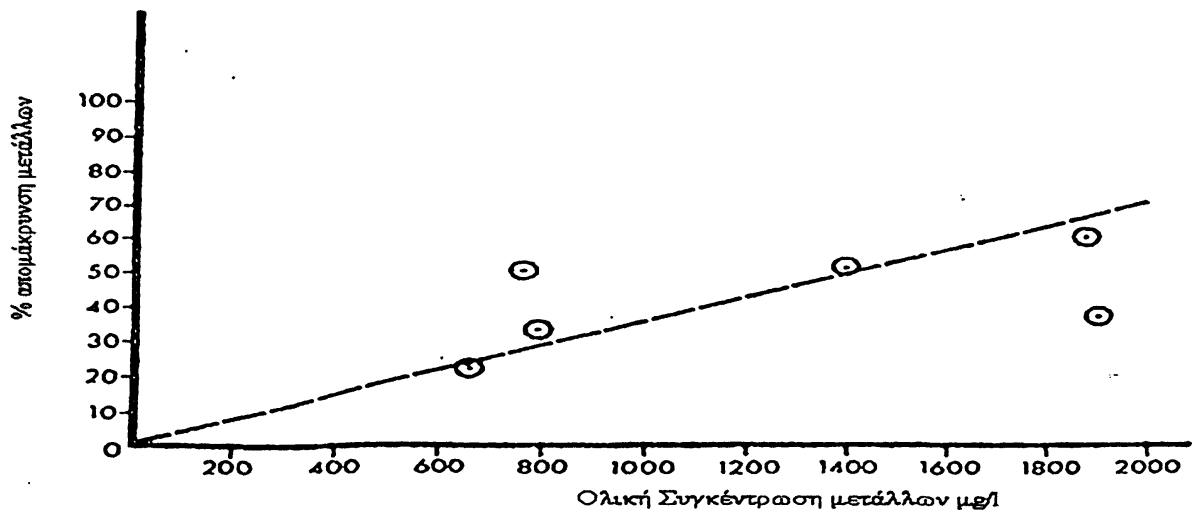
Συμπερασματικά στο ολικό φορτίο των μετάλλων οι πρωτοβάθμιες μονάδες προκαλούν απομάκρυνση περίπου του 40% ενώ οι δευτεροβάθμιες 52%, επίσης οι δευτεροβάθμιες έχουν περίπου 77% απομάκρυνση αιωρουμένων στερεών ενώ οι πρωτοβάθμιες 60%. Υπάρχει σημαντική σχέση μεταξύ:

1. του ποσοστού των βαρέων μετάλλων που απομακρύνονται και του ολικού ποσοστού των εισερχομένων μετάλλων.
2. του ποσοστού απομάκρυνσης των βαρέων μετάλλων και του ποσοστού απομάκρυνσης των αιωρουμένων στερεών (εικ. 6,7).

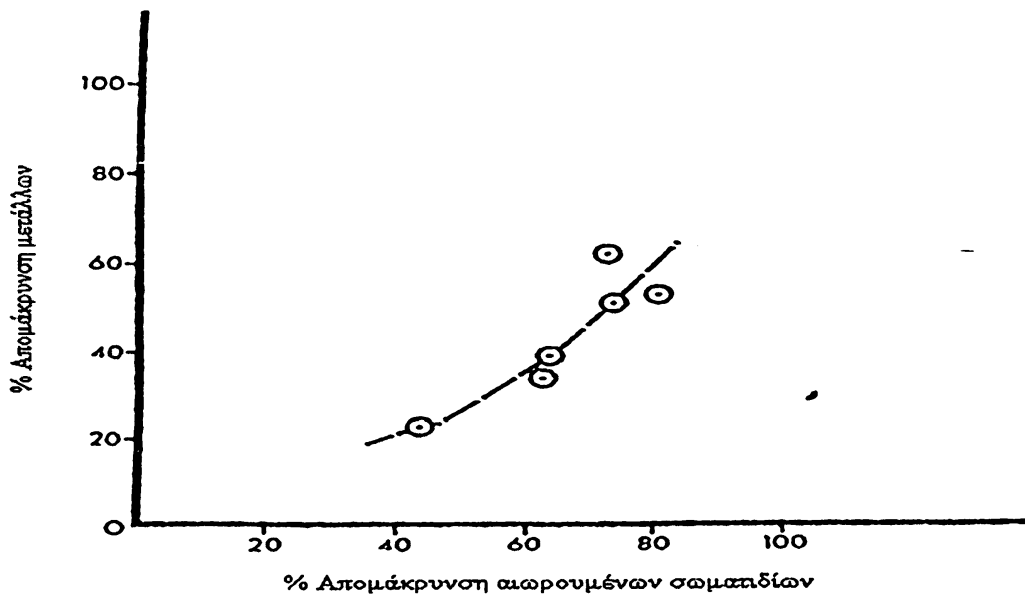
Η αύξηση του όγκου της ιλύος δείχνει μείωση της ικανότητας απομάκρυνσης των μετάλλων και επίσης έχει παρατηρηθεί ότι η μεγάλη ηλικία της λάσπης συνεισφέρει στην αύξηση του ποσοστού απομάκρυνσης των αιωρούμενων στερεών αλλά και των μετάλλων (Pb, Zn). Οι Barth EF. et al., 1965 βρήκαν ότι η ποσότητα των Cu, Zn, Ni και Cr που απομακρύνεται εξαρτάται από την υπάρχουσα συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου ενώ η καλύτερη απομάκρυνση Pb γίνεται με μεγαλύτερη χρονική παρακράτηση στην δευτεροβάθμια επεξεργασία (Brown HG. et al., 1973).

Πιν. 17: Απομάκρυνση των βαρέων μετάλλων. Ετήσιο μέσο ποσοστό(%) απομάκρυνσης (Brown HG. et al., 1973)

| Περιοχή | Pb | Cu | Cd | Cr | Zn | Hg | Average |
|-----------------------------|----|----|----|----|----|----|---------|
| Kansas City (urban) | 59 | 70 | 25 | 36 | 68 | 54 | 62 |
| Kansas City (industrial) | 28 | 59 | 0 | 26 | 52 | 25 | 39 |
| Sioux City, Iowa (urban) | 67 | 28 | 13 | 17 | 43 | 13 | 34 |
| Joplin, Missouri (urban) | 66 | 65 | 29 | 38 | 51 | 47 | 53 |
| Grand Island, Neb. (urban) | 43 | 61 | 11 | 78 | 48 | 17 | 51 |
| Jefferson City, Mo. (urban) | 28 | 12 | 20 | 29 | 22 | 36 | 23 |
| Average | 49 | 49 | 16 | 37 | 47 | 32 | 44 |



Εικόνα 6 Ποσοστό απομάκρυνσης μετάλλων προς ολική συγκέντρωση μετάλλων

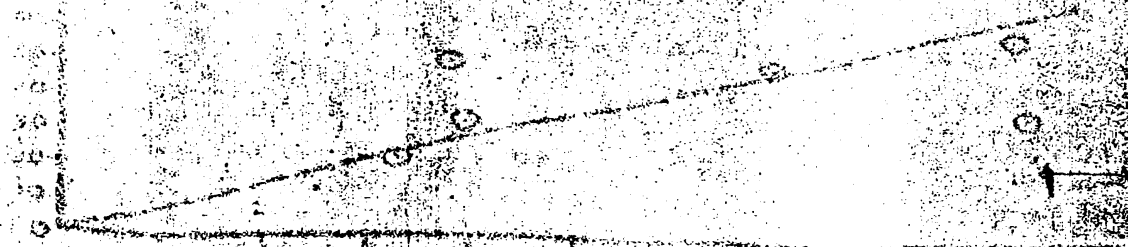


Εικόνα 7 Ποσοστό απομάκρυνσης μετάλλων προς ποσοστό απομάκρυνσης αιωρ. σωματιδίων

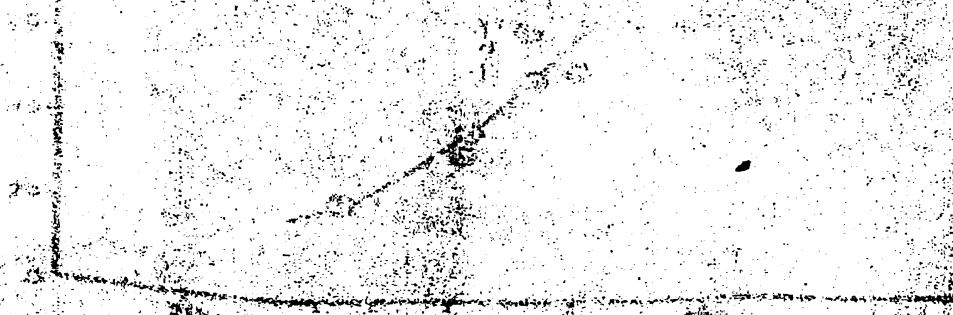


ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ





YAKA KAI MEOOVI



...



5. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

5.1 Πειραματόζωα

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 105 επίμυες Wistar Albino rats αρσενικού γένους που προέρχονται από σειρές αναπαραγωγής του εκτροφείου πειραματοζώων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Το αρχικό βάρος των πειραματοζώων κυμαινόταν από 170 έως 210 γραμμάρια.

5.1.1 Συνθήκες πειραματισμού

Τα πειραματόζωα χωρίστηκαν σε 5 ομάδες με αρχικό πληθυσμό 20 ζώων σε κάθε μία και χορηγήθηκαν σε αυτές πέντε διαφορετικοί τύποι πόσιμου νερού. Σαν βάση πόσιμου νερού για τα πειραματόζωα χρησιμοποιήθηκε το εκκρέον λύμα από την τελική έξοδο του δευτεροβάθμιου βιολογικού καθαρισμού της πόλης των Ιωαννίνων. Η συλλογή δειγμάτων του υγρού λύματος γινόταν κάθε δύο ημέρες, το λύμα αποθηκευόταν σε πλαστικά δοχεία και οδηγούνταν απ' ευθείας στο εκτροφείο όπου γινόταν η διάθεσή του στα πειραματόζωα. Οι ομάδες πειραματισμού που χρησιμοποιήθηκαν για τις ανάγκες του πειράματος είναι οι ακόλουθες:

- I. Ομάδα Π1 στην οποία χορηγούνταν απ' ευθείας λύμα του βιολογικού καθαρισμού σε pH περίπου 8.0.
- II. Ομάδα Π2 όπου χορηγούνταν αραιωμένο λύμα του βιολογικού καθαρισμού με νερό της ύδρευσης σε αναλογία 1:5.
- III. Ομάδα Π3 όπου χορηγούνταν αραιωμένο λύμα του βιολογικού καθαρισμού με νερό της ύδρευσης σε αναλογία 1:10.
- IV. Ομάδα Π4 στην οποία χορηγούνταν απ' ευθείας λύμα του βιολογικού καθαρισμού στο οποίο έχει ρυθμιστεί το pH με διάλυμα υδροχλωρίου (HCl, Merck, suprapure) 10M και τελικό pH: 7.0.
- V. Ομάδα Π5 (ομάδα ελέγχου) στην οποία χορηγούνταν ως πόσιμο νερό το νερό της ύδρευσης της πόλης.

Στις παραπάνω συνθήκες τα πειραματόζωα τοποθετήθηκαν ανά 3 σε κάθε κλωβό με σίτιση κανονική, σε συνθήκες 12 ώρες φως - 12 ώρες σκοτάδι, κανονικό αερισμό και υγρασία. Τα ζώα είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε τροφή και νερό το οποίο ανανεωνόταν κάθε δύο ημέρες.

Το πείραμα άρχισε τον Ιανουάριο 1995 και τελείωσε τον Ιούνιο 1998.

Τα πειραματόζωα κάθε ομάδας παρακολουθούντο τακτικά (2-3 φορές ανά εβδομάδα) και γινόταν καταγραφή τόσο των μεταβολών της συμπεριφοράς τους όπως κινητικότητα, αντιδραστικότητα, προσανατολισμός, διαταραχές βάδισης, αδυναμία πρόσληψης τροφής και ύδατος καθώς και εμφάνιση η μη γαστρεντερικών διαταραχών όπως εμετοί και διάρροιες και δερματολογικών αλλαγών όπως απόπτωση δέρματος.

Κατά τη διάρκεια της χρόνιας χορήγησης των διαφορετικών συγκεντρώσεων του λύματος θυσιάζονταν ανά ένα εξάμηνο 3 επίμυες, από κάθε ομάδα πειραματισμού, στους οποίους αρχικά γινόταν καρδιογραφικός έλεγχος και στη συνέχεια λήψη αίματος και ιστών.



Στο ολικό αίμα προσδιορίζονταν ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων, καθώς και των υποπληθυσμών τους, ο αριθμός των ερυθρών αιμοσφαιρίων, η αιμογλοβίνη, ο αιματοκρίτης, ο αριθμός των αιμοπεταλίων, ο μέσος όγκος ερυθρών αιμοσφαιρίων, η μέση και η επί τοις εκατό (%) περιεκτικότητα σε αιμοσφαιρίνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων.

Στον ορό προσδιορίζονταν οι βιοχημικές παράμετροι: τρανσαμινάσες AST και ALT, σάκχαρο, κρεατινίνη καθώς και η περιεκτικότητα στα μέταλλα Cu, Zn, Pb και Cd. Στους ιστούς των πειραματοζώων που απομακρύνονταν, γινόταν προσδιορισμός των μετάλλων Cu, Zn, Pb και Cd. Τμήματα των ιστών ετοποθετούντο σε φορμαλίνη 7% για παθολογοανατομικό έλεγχο. Τόσο τα ζώα των ομάδων πειραματισμού όσο και αυτά της ομάδας ελέγχου ήταν της ίδιας ηλικίας και φύλου, επίσης η σίτιση ήταν ίδια για όλες τις ομάδες μελέτης.

Η αναισθητοποίηση των ζώων γινόταν με εφ'άπαξ ενδομυϊκή έγχυση του αναισθητικού Κεταμίνης (Ketaset) και του μυοχαλαρωτικού Φεντανύλης (Fentanyl) σε δοσολογία 6mg και 2.5 mg ανά χιλιόγραμμο βάρους σώματος, αντίστοιχα.

5.2 Συλλογή δειγμάτων

5.2.1 Χρόνος συλλογής δειγμάτων

Η καταγραφή του βάρους των πειραματοζώων γινόταν κάθε 15 ημέρες για κάθε ζώο χωριστά από την έναρξη του πειράματος έως τη λήξη του. Η συλλογή των ούρων των ζώων, για προσδιορισμό των μετάλλων Cu, Zn, Pb, Cd, γινόταν ανά 3 μήνες (μέση συχνότητα), ενώ γινόταν και συλλογή των ούρων 24ώρου, των ζώων που επρόκειτο να θυσιαστούν. Ο ηλεκτροκαρδιογραφικός έλεγχος των ζώων και η συλλογή των δειγμάτων αίματος και ιστών έγιναν: 1) στην έναρξη του πειράματος 2) στο πρώτο εξάμηνο του πειράματος 3) στο δεύτερο εξάμηνο του πειράματος 4) στο τρίτο εξάμηνο και 5) στο τέταρτο εξάμηνο.

Ένα μέρος του πληθυσμού από τα ζώα της κάθε ομάδας, συνολικά 8 ζώα, παρακολουθούνταν για το προσδόκιμο επιβίωσης και μετά το θάνατο του καθενός από αυτά, καταγραφόταν το βάρος του, γινόταν αφαίρεση των ιστών για μέτρηση των ιχνοστοιχείων και παθολογοανατομική διερεύνηση.

5.2.2 Συλλογή ούρων

Τα πειραματόζωα τοποθετήθηκαν καθένα ξεχωριστά σε ειδικούς μεταβολικούς κλωβούς όπου γινόταν η συλλογή των ούρων 24ώρου και εκτίμηση του καταναλωθέντος πόσιμου νερού αντίστοιχα. Αφού συλλέγονταν τα ούρα 24ώρου, μετριόταν ο όγκος τους και στη συνέχεια γινόταν προσθήκη μικρής ποσότητας νιτρικού οξέος (2M) μέχρι pH:~3 και αποθηκεύονταν σε φιαλίδια Nalgene στους -20 °C για τον προσδιορισμό των βαρέων μετάλλων.

5.2.3 Λήψη καρδιογραφήματος

Ο έλεγχος της καρδιακής λειτουργίας γινόταν ηλεκτροκαρδιογραφικά. Μετά την αναισθητοποίηση και την επίτευξη ικανού βαθμού μυοχάλασης, ώστε να μην δημιουργείται "θόρυβος", το πειραματόζωο σταθεροποιούνταν σε χειρουργική αυτοθερμαινόμενη (σε θερμοκρασία σώματος) τράπεζα και τοποθετούνταν υποδορίως στις περιοχές των τارسών των εμπρόσθιων και οπίσθιων άκρων συνολικά 4 βελονοειδή ηλεκτρόδια (pin electrodes) ενωμένα με τα καλώδια των απαγωγών των

άκρων του καταγραφικού μηχανήματος. Κατόπιν ενσταλλαζόταν στις περιοχές επαφής των ηλεκτροδίων/δέρματος μικρή ποσότητα φυσιολογικού ορού για την αύξηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας και λαμβανόταν το ηλεκτροκαρδιογράφημα κατά τις απαγωγές I, II, III και AVR, AVL, AVF. Η λήψη του ηλεκτροκαρδιογραφήματος γινόταν με ηλεκτροκαρδιογράφο FUCUDA DENSHI CARDIMAX FK 12 σε κοινό ηλεκτροκαρδιογραφικό χαρτί με ταχύτητα 50mm/sec.

5.2.4 Αιμοληψία

Η αιμοληψία γινόταν αμέσως μετά τη λήψη του καρδιογραφήματος ώστε να διατηρείται η αναισθητοποίηση του ζώου. Η συλλογή των δειγμάτων αίματος γινόταν με τη βοήθεια σύριγγας των 10 ml από την αριστερή κοιλία της καρδιάς μετά από θωρακοτομή του πειραματοζώου. Μέρος από το ολικό δείγμα του αίματος (περίπου 1 - 2ml) αποθηκευόταν σε πλαστικά φιαλίδια τα οποία περιείχαν ποσότητα αντιπηκτικού (ηπαρίνης) και στη συνέχεια οδηγούνταν στο εργαστήριο για γενική αίματος. Στο υπόλοιπο δείγμα του αίματος γινόταν φυγοκέντρηση σε 3000g για 15 λεπτά προς λήψη ορού. Σε ένα μέρος του ορού (περίπου 0.5ml) γινόταν προσδιορισμός των βιοχημικών παραμέτρων.

5.2.5 Συλλογή ιστών

Μετά την συλλογή των δειγμάτων του αίματος, γινόταν έκπλυση (perfusion in situ) των οργάνων του ζώου, με έγχυση 20 ml φυσιολογικού ορού. Αναλυτικότερα μέσω της οπής που ανοίγεται από τη σύριγγα που χρησιμοποιείται για τη λήψη αίματος οδηγούνταν, ποσότητα φυσιολογικού ορού στο αριστερό μέρος της καρδιάς του πειραματοζώου, ενώ παράλληλα είχε γίνει με χειρουργικό νυστέρι τομή στο δεξιό μέρος του καρδιακού ιστού από την οποία απομακρυνόταν, κατά τον καρδιακό παλμό, το αίμα. Η διαδικασία αυτή εισόδου φυσιολογικού ορού, συνεχιζόταν ώσπου να υπάρχει έξοδος μόνο φυσιολογικού ορού από την τομή στο δεξιό μέρος της καρδιάς και επίσης 'καθαρισμός' από το αίμα των οργάνων του πειραματοζώου κυρίως του ήπατος και των νεφρών.

Στη συνέχεια αφαιρούνταν από το ζώο οι πνεύμονες, η καρδιά, ο σπλήνας, το ήπαρ, οι νεφροί, οι όρχεις, η ουροδόχος κύστη, το οστό της κνήμης, ο μυς της κνήμης και ο εγκέφαλος με την παρεγκεφαλίδα. Οι ιστοί εκπλύνονταν ο καθένας ξεχωριστά σε διάλυμα φυσιολογικού ορού και στη συνέχεια αποθηκεύονταν σε διάλυμα φορμόλης 10% ώσπου να γίνουν αφενός η όξινη πέψη και στη συνέχεια η μέτρηση των μετάλλων Cu, Zn, Pb και Cd με τη μέθοδο της ατομικής απορρόφησης και αφετέρου οι παθολογοανατομικές εξετάσεις.

Στην έναρξη του πειράματος θυσιάστηκαν 5 ζώα από τον αρχικό πληθυσμό των πειραματοζώων και έγινε συλλογή των οργάνων τους έτσι ώστε να καταγραφεί η αρχική - φυσιολογική συγκέντρωση των ιχνοστοιχείων.

5.3 Προσδιορισμός αιματολογικών παραμέτρων

α) Στο ολικό αίμα των ζώων

Το ολικό ηπαρινισμένο αίμα των ζώων μεταφερόταν την ίδια ημέρα που γινόταν η συλλογή του, στο Αιματολογικό εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων όπου αναλύονταν στον αυτόματο αναλυτή αίματος, μοντέλο CELL - DYN 3500, ABBOTT DIAGNOSTICS και στο αποθηκευμένο πρόγραμμα για



συνθήκες πειραματοζώων και συγκεκριμένα αρουραίων (rats), οι παρακάτω παράμετροι του αίματος:

- ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων.
- ο αριθμός των ουδετερόφιλων των λευκών αιμοσφαιρίων.
- ο αριθμός των λεμφοκυττάρων των λευκών αιμοσφαιρίων.
- ο αριθμός των μονοκυττάρων των λευκών αιμοσφαιρίων.
- ο αριθμός των ηωσινόφιλων των λευκών αιμοσφαιρίων.
- ο αριθμός των βασεόφιλων των λευκών αιμοσφαιρίων.
- ο αριθμός των ερυθρών αιμοσφαιρίων.
- η ποσότητα της αιμογλοβίνης.
- η τιμή του αιματοκρίτη.
- ο μέσος όγκος ερυθρών αιμοσφαιρίων.
- η μέση περιεκτικότητα σε αιμοσφαιρίνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων
- η επί τοις εκατό (%) περιεκτικότητα σε αιμοσφαιρίνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων
- ο αριθμός των αιμοπεταλίων

β) Στον ορό των ζώων

Η ποσότητα του ορού που διαχωριζόταν για μέτρηση των βιοχημικών παραμέτρων μεταφερόταν την ίδια ημέρα στο Βιοχημικό εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων για μέτρηση στον αυτόματο αναλυτή OLYMPUS AU 600, των:

- κρεατινίνης
- σάκχαρου
- τρανσαμινάσων AST και ALT.

5.4 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ

5.4.α Όργανα, μέθοδος μέτρησης

Ο προσδιορισμός των βαρέων μετάλλων έγινε με φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης (AAS). Το φασματοφωτόμετρο Ατομικής Απορρόφησης ήταν Perkin Elmer mod. 560 και οι μετρήσεις έγιναν στο εργαστήριο Πειραματικής Φυσιολογίας της Ιατρικής σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

5.4.β Παρασκευή προτύπων διαλυμάτων

Χαλκός (Cu)

Πρότυπα διαλύματα για την καμπύλη αναφοράς παρασκευάστηκαν από το αρχικό πυκνό διάλυμα νιτρικού χαλκού Srectrosol, BDH Chemicals Ltd Poole England, περιεκτικότητας 1mg Cu ανά ml διαλύματος. Οι συγκεντρώσεις των προτύπων ήταν οι ακόλουθες:

S₁ : 2.0 μg/ml

S₂ : 4.0 μg/ml



S₃ : 8.0 µg/ml

Ρυθμίσεις λειτουργίας του οργάνου

Μήκος κύματος: 324.8nm
Εύρος σχισμής (slit): 0.7 nm
Πηγή φωτός: Λάμπα κοίλης καθόδου Cu
Φλόγα: Μείγμα ασετυλίνης - αέρα, οξειδωτική
Ευαισθησία: 0.09 µg/ml Cu για 1% απορρόφηση. Τα 5.0 µg/ml έχουν απορρόφηση 0.25 μονάδες.

Ψευδάργυρος (Zn)

Πρότυπα διαλύματα για την καμπύλη αναφοράς παρασκευάστηκαν από το αρχικό πυκνό διάλυμα νιτρικού ψευδαργύρου Srectrosol, BDH Chemicals Ltd Poole England, περιεκτικότητας 1mg Zn ανά ml διαλύματος. Οι συγκεντρώσεις των προτύπων ήταν οι ακόλουθες:

S₁ : 0.5 µg/ml

S₂ : 1.5 µg/ml

S₃ : 3.0 µg/ml

Ρυθμίσεις λειτουργίας του οργάνου

Μήκος κύματος: 213.9nm
Εύρος σχισμής (slit): 0.7 nm
Πηγή φωτός: Λάμπα κοίλης καθόδου Zn
Φλόγα: Μείγμα ασετυλίνης - αέρα, οξειδωτική
Ευαισθησία: 0.018 µg/ml Zn για 1% απορρόφηση. Τα 0.5 µg/ml έχουν απορρόφηση 0.12 μονάδες.

Μολυβδος (Pb)

Πρότυπα διαλύματα για την καμπύλη αναφοράς παρασκευάστηκαν από το αρχικό πυκνό διάλυμα νιτρικού μολύβδου Srectrosol, BDH Chemicals Ltd Poole England, περιεκτικότητας 1mg Pb ανά ml διαλύματος. Οι συγκεντρώσεις των προτύπων ήταν οι ακόλουθες:

S₁ : 1.0 µg/ml

S₂ : 2.0 µg/ml

S₃ : 4.0 µg/ml

Ρυθμίσεις λειτουργίας του οργάνου

Μήκος κύματος: 283.3nm
Εύρος σχισμής (slit): 0.7 nm
Πηγή φωτός: Λάμπα κοίλης καθόδου Pb
Φλόγα: Μείγμα ασετυλίνης - αέρα, οξειδωτική
Ευαισθησία: 0.01 µg/ml Pb για 1% απορρόφηση. Τα 20.0 µg/ml έχουν απορρόφηση 0.18 μονάδες.



Κάδμιο (Cd)

Πρότυπα διαλύματα για την καμπύλη αναφοράς παρασκευάστηκαν από το αρχικό πυκνό διάλυμα νιτρικού καδμίου Srectrosol, BDH Chemicals Ltd Poole England, περιεκτικότητας 1mg Cd ανά ml διαλύματος. Οι συγκεντρώσεις των προτύπων ήταν οι ακόλουθες:

S₁ : 0.5 µg/ml

S₂ : 1.0 µg/ml

S₃ : 2.0 µg/ml

Ρυθμίσεις λειτουργίας του οργάνου

Μήκος κύματος: 228.8nm

Εύρος σχισμής (slit): 0.7 nm

Πηγή φωτός : Λάμπα κοίλης καθόδου Cd

Φλόγα : Μείγμα ασετυλίνης - αέρα, οξειδωτική

Ευαισθησία : 0.025 µg/ml Cd για 1% απορρόφηση. Τα 2.0 µg/ml έχουν απορρόφηση 0.35 μονάδες.

5.4.γ Προετοιμασία δειγμάτων υγρού λύματος και νερού ύδρευσης.

Κάθε 3 μήνες μετριόταν η περιεκτικότητα σε μέταλλα στο υγρό λύμα του βιολογικού καθαρισμού, που δινόταν ως πόσιμο νερό στα πειραματόζωα, καθώς και στο νερό της ύδρευσης της πόλεως.

Το δείγμα της εκροής λαμβανόταν σε πλαστική φιάλη των 5 lt και οδηγούνταν το δυνατόν γρηγορότερα στο εργαστήριο για ανάλυση. Αρχικά γινόταν διήθηση συγκεκριμένης ποσότητας του δείγματος, 250 ml, και τα αιωρούμενα σωματίδια συλλέγονταν σε φίλτρα κυτταρίνης 0.45µm (Cellulose GN-6 Metrical sterile filter membranes). Το διήθημα συλλεγόταν σε πλαστική φιάλη, οξινιζόταν έως pH:~3 με αραιό διάλυμα νιτρικού οξέος 1M και οδηγούνταν για μέτρηση.

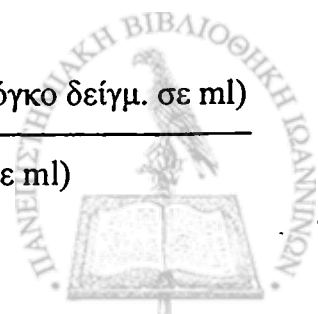
Τα φίλτρα τοποθετούνταν σε καλά καθαρισμένα τριβλία petri και μετά οδηγούνταν για ξήρανση στους 80° C για 24 ώρες, ενώ μετά την ξήρανση αφήνονταν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος μέχρι σταθερού βάρους. Ακολουθούσε όξινη πέψη των φίλτρων με μείγμα οξέων HNO₃ και HClO₄ και αραιώση μέχρι τελικού όγκου 10ml όπως περιγράφεται αναλυτικότερα παρακάτω.

Για το νερό της ύδρευσης δεν χρειαζόταν καμία ιδιαίτερη επεξεργασία καθώς δεν υπήρχαν αιωρούμενα σωματίδια, γινόταν μόνο οξίνιση με αραιό HNO₃, 1M ώστε το pH: ~3.

Υπολογισμός συγκεντρώσεων των μετάλλων

Ο τύπος που δίνει την περιεκτικότητα των νερών σε mg/l είναι :

$$\text{Τελική Συγκέντρωση (mg/l)} = \frac{(\text{τιμή μετάλλου σε mg/l}) \times (\text{τελικό όγκο δείγμ. σε ml})}{(\text{αρχικό όγκο που διηθήθηκε σε ml})}$$



τελικός όγκος δείγματος = 10ml,
 αρχικός όγκος που διηθήθηκε = 250 ml

5.4.δ Προετοιμασία δειγμάτων ορού και ούρων

Μετά τη συλλογή των δειγμάτων ορού και ούρων ακολουθούσε οξίνιση με διάλυμα HCL, 2M μέχρι pH:~ 3. Στη συνέχεια, για τον προσδιορισμό του Zn του ορού και των ούρων γινόταν αραιώση 1:4(v/v) με δις-απεσταγμένο νερό μιας συγκεκριμένης ποσότητας ορού και ούρων και οξίνιση πάλι με HCl, 2M μέχρι pH:~3. ενώ τα υπόλοιπα μέταλλα μετρούνταν απ' ευθείας.

5.4.ε Προετοιμασία δειγμάτων ιστών (όξινη πέψη)

Για την πέψη των ιστών ζυγίζοταν ακριβής μάζα του ιστού, συνήθως 1g, και τοποθετούνταν σε κωνική φιάλη των 100 ml με 10 ml δις-απεσταγμένου νερού. Στη συνέχεια προσθέτονταν 8 ml μείγματος οξέων πυκνού HNO₃ και HClO₄ (Merck, Syrrapur) σε αναλογία (1:1 v/v). Η κωνική φιάλη με το δείγμα αφηνόταν στον απαγωγό για 1 ώρα και μετά τοποθετούνταν σε αμμόλουτρο στους 180°C, μέχρι το διάλυμα και οι εκλυόμενοι ατμοί να γίνουν διαυγής (ολοκλήρωση της πέψης του ιστού). Το διαυγές διάλυμα μεταφερόταν σε πλαστική ογκομετρική φιάλη των 15 ml και συμπληρώνεται έως τα 10ml με δις-απεσταγμένο νερό (Naveh Y. et al., 1988, Bogden et al., 1981, Zakrzewska M. et al., 1993).

Για την μέτρηση των συγκεντρώσεων του Zn τα δείγματα αραιώνονταν με δις-απεσταγμένο νερό και σε αναλογία 1:3 v/v.

5.4.στ Υπολογισμός συγκεντρώσεων των μετάλλων

Για το σχηματισμό της καμπύλης αναφοράς του κάθε μετάλλου χρησιμοποιήθηκαν τα αντίστοιχα πρότυπα (όπως έχουν αναφερθεί παραπάνω). Ο υπολογισμός της τελικής συγκέντρωσης του μετάλλου έγινε βάσει του τύπου:

$$\text{Μέταλλο (}\mu\text{g/g)} = \frac{(\mu\text{g/ml διαλύματος}) * (\text{όγκος διαλύματος σε ml}) * (\text{d.f.})}{(\text{βάρος δείγματος σε g})}$$

όπου d.f = συντελεστής αραιώσης

η συγκέντρωση μετάλλου εκφράζεται σε μg μέταλλου ανά υγρό βάρος ιστού

- ο υπολογισμός του δείκτη συσσώρευσης (δ.σ.) 24 μηνών είναι:

$$\delta.σ. = \frac{\text{συγκέντρωση μετάλλου στον ιστό στους 24 μήνες}}{\text{σύγκέντρωση μετάλλου στον ίδιο ιστό στους 0 μήνες}}$$



5.5 Παθολογοανατομικές εξετάσεις

Αρχικώς τα δείγματα των ιστών μονιμοποιήθηκαν για περίπου 15 ημέρες σε διάλυμα φορμόλης 10%, στη συνέχεια αφυδατώθηκαν και εγκλείστηκαν σε κύβους παραφίνης. Από αυτούς ελήφθησαν τομές πάχους 5μm, οι οποίες χρωματίστηκαν με τη χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης (H+E).

Η διαδικασία της χρώσης που ακολουθήθηκε είναι η εξής:

Οι τομές των ιστών τοποθετούνταν αρχικά σε αντικειμενοφόρους πλάκες και γινόταν αποπαραφίνωση των τομών τοποθετώντας τα πλακίδια σε διάλυμα ξυλόλης για 10 λεπτά και στη συνέχεια σε ένα δεύτερο διάλυμα ξυλόλης για άλλα 10 λεπτά.

Στη συνέχεια γινόταν πολλές φορές εμβάπτιση των πλακιδίων σε 100 βαθμούς οινόπνευμα (δύο φορές) και στη συνέχεια σε 96 βαθμούς οινόπνευμα (2 φορές). Τέλος ακολουθεί ξέπλυμα των πλακιδίων με νερό βρύσης και απεσταγμένο νερό.

Προστίθεται το διάλυμα αιματοξυλίνης στα πλακίδια και αφήνεται να δράσει για 10 λεπτά ακολουθεί ξέπλυμα με νερό βρύσης και στη συνέχεια με οξινομένο οινόπνευμα για ελαφρύ αποχρωματισμό, ξανά ξέπλυμα με απεσταγμένο νερό, προσθήκη διαλύματος ηωσίνης για 1 λεπτό και ξέπλυμα με απεσταγμένο νερό. Στη συνέχεια γίνονται πολλές εμβαπτίσεις των πλακιδίων σε οινόπνευμα 96 βαθμών και στη συνέχεια 100 βαθμών και τέλος τοποθετούνται σε ξυλόλη και στη συνέχεια γίνεται κάλυψη με καλυπτρίδα. Μετά την πάροδο 2 ωρών (αφού μονιμοποιηθούν) γίνεται μικροσκοπική εξέταση.

Μετά τη χρώση H+E, σε νέες τομές ιστών (blocks) επιλεγμένων πειραματοζώων που απεβίωσαν ή/και θανατώθηκαν έγινε η χρώση της ροδαμίνης που είναι κατάλληλη για ανίχνευση Cu. Χρησιμοποιήθηκαν τα ειδικά αντιδραστήρια για την χρώση ροδαμίνης της εταιρίας Bio - Optica. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής:

Γινόταν αποπαραφίνωση των τομών των ιστών με την διαδικασία της ξυλόλης (2 φορές) - οινόπνευμα 100 βαθμούς (2 φορές) - οινόπνευμα 96 βαθμούς (2 φορές) - ξέπλυμα με νερό βρύσης και απεσταγμένο.

Παρασκευάστηκε ένα ρυθμιστικό διάλυμα (buffer solution) αποτελούμενο από 98ml απεσταγμένου νερού, 2ml διαλύματος οξικού Na και 15 σταγόνες διαλύματος φορμόλης.

Σε γυάλινο δοχείο των 50ml τοποθετήθηκαν 40ml απεσταγμένου νερού και προστέθηκαν 10 σταγόνες διαλύματος αλκοολικής ροδαμίνης. Οι αντικειμενοφόρες πλάκες των ιστών εμβαπτίστηκαν στο παραπάνω διάλυμα και τοποθετήθηκαν σε φούρνο μικροκυμάτων σε ισχύ 500W για 60 δευτερόλεπτα και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν για 2 λεπτά στο προηγούμενο διάλυμα.

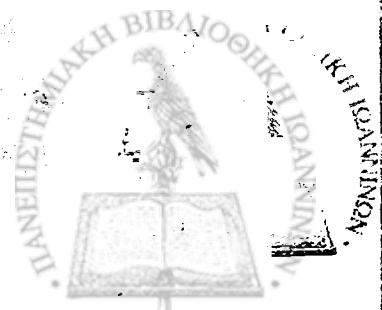
Ξεπλένονται 3 φορές στο ρυθμιστικό διάλυμα που είχε παρασκευαστεί και προστέθηκαν στην κάθε μια 10 σταγόνες αντιδραστήριου αιματοξυλίνης Mayer και αφήθηκε να δράσει για 5 λεπτά. Στη συνέχεια ξεπλένεται 3 φορές με το ρυθμιστικό διάλυμα και μονιμοποιούνταν ως εξής: αιθυλική αλκοόλη 96 βαθμούς (2 φορές) - αιθυλική αλκοόλη 100 βαθμούς (2 φορές) - ξυλόλη (2 φορές) και τέλος κάλυψη με καλυπτρίδες.

Σύμφωνα με τις οδηγίες της μεθόδου ο επικείμενος χρωματισμός του Cu στα κύτταρα είναι πολύ σκούρο κόκκινο (προς το μαύρο) ενώ ο χρωματισμός των πυρήνων των κυττάρων είναι κυανός.

Η μικροσκοπική εξέταση γινόταν με μικροσκόπιο OLYMPUS BX 50- F4.

Η κατεργασία των δειγμάτων που περιγράφηκε παραπάνω καθώς και η τελική μικροσκοπική εξέταση γινόταν στο Εργαστήριο της Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ



6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

6.1 Φυσικοχημικές παράμετροι και επίπεδα μετάλλων στο λύμα

Το τελικό λύμα της εξόδου του Βιολογικού καθαρισμού που χορηγούνταν στα πειραματόζωα, είχε τα παρακάτω χαρακτηριστικά : 1.95 – 8.2 mg/lt N-NH₃, 8.0 – 12.2 mg/lt N-NO₃, 6.1 – 14 mg/lt P-PO₄, 6 - 10 mg/lt BOD₅, 22.2 – 36.5 mg/lt COD, 5.0 – 5.7 mg/lt DO, 7.8 – 8.2 pH, 6.6 – 13.5 mg/lt TSS και 0.3 – 0.6 mg/lt Cl⁻.

Οι συγκεντρώσεις των ιχνοστοιχείων όπως αυτές υπολογίστηκαν από τις μετρήσεις στο εργαστήριο είναι οι ακόλουθες (πιν. 18).

Πιν. 18: Μέσες τιμές και διακύμανση των συγκεντρώσεων των μετάλλων στην τελική εκροή του βιολογικού καθαρισμού και στο νερό της ύδρευσης

| | Εκροή του βιολογικού καθαρισμού (mg/l) | | Νερό της ύδρευσης (mg/l) |
|-----------|---|---------------|--------------------------------|
| | Διαλυτό κλάσμα | Ολικό κλάσμα | |
| Cu | 0.01 ± 0.005 | 0.55 ± 0.1 | 0.01 ± 0.002 |
| Zn | 0.06 ± 0.002 | 0.85 ± 0.15 | 0.580 ± 0.05 |
| Pb | 0.004 ± 0.001 | 0.01 ± 0.003 | 0.002 ± 0.001 |
| Cd | 0.0001 ± 0.0001 | 0.004 ± 0.001 | 0.0002 ± 0.0001 |

6.2 Λειτουργικές Παράμετροι

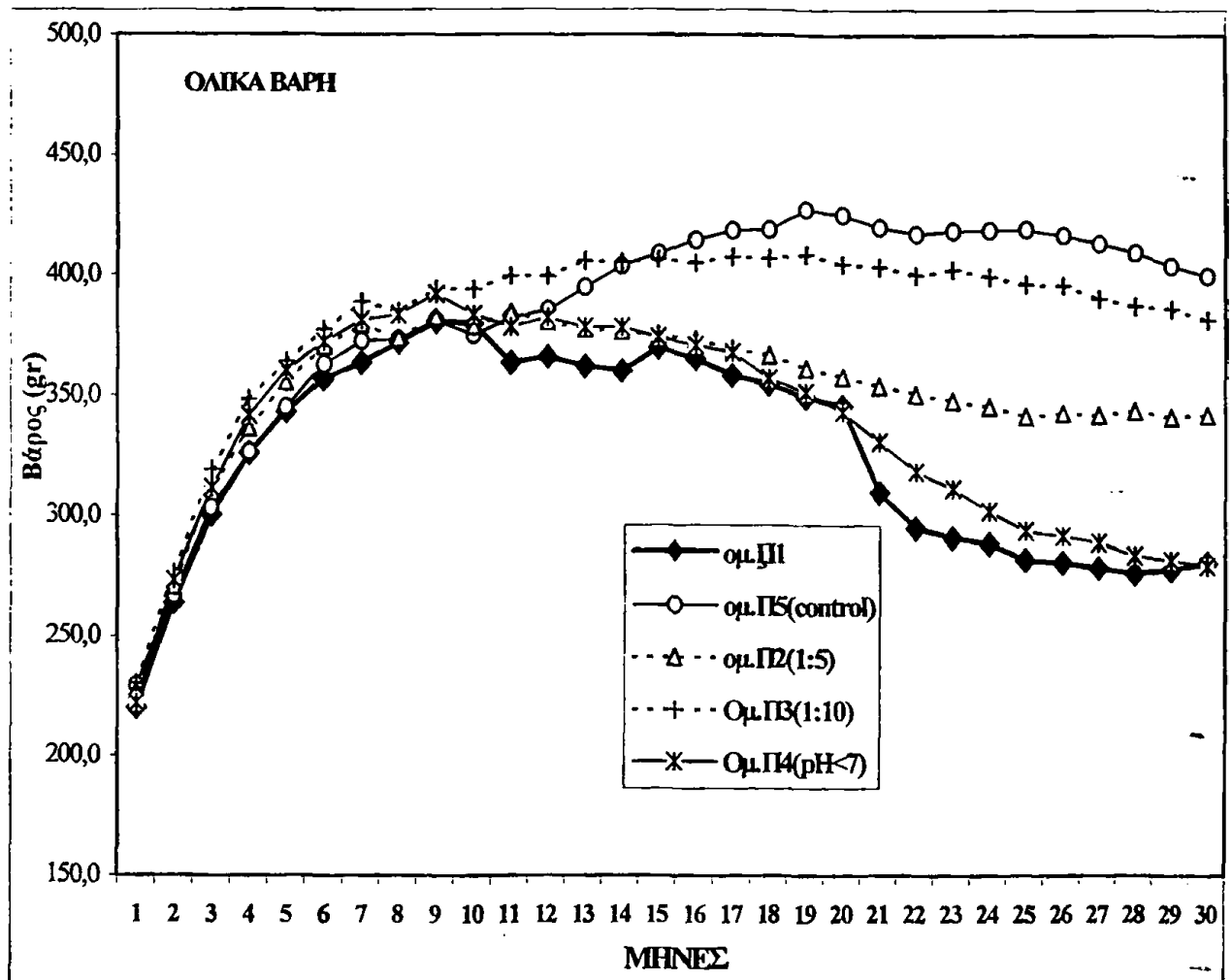
Από την καταγραφή των παραμέτρων της εβδομαδιαίας παρακολούθησης των πειραματοζώων προέκυψε ότι τα πειραματόζωα της ομάδας Π1 και μερικώς της Π4 (pH: 7.0) εμφάνισαν προοδευτική μείωση της κινητικότητας και της αντιδραστικότητας τους εντονότερη σε σύγκριση με αυτή των άλλων ομάδων. Επίσης σχετική επιβάρυνση κατάγράφηκε σε ζώα της ομάδας αυτής στην ικανότητα πρόσληψης της τροφής τους. Τα παραπάνω θεωρήθηκαν ενδεικτικά της έκπτωσης του νευρομυϊκού συστήματος και πιθανώς του κεντρικού νευρικού συστήματος. Κανένα από τα ζώα δεν εμφάνισε παράτεταμένες γαστρεντερικές διαταραχές (εμετοί – διάρροιες) πλην σποραδικών συμβάντων σε ζώα όλων των ομάδων, πολύ μικρής διάρκειας.



6.2.1 Βάρος των ζώων

Η καταγραφή του βάρους των ζώων γινόταν, όπως έχει ήδη αναφερθεί, κάθε 15 ημέρες με έναρξη από την αρχή του πειράματος έως και τον 30^ο μήνα πειραματισμού. Σχηματικά οι μεταβολές των βαρών συναρτήσει του χρόνου φαίνονται στο παρακάτω διάγραμμα.

Από τις καταγραφές του βάρους των ζώων παρατηρήθηκε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων Π1 και Π5 ($p < 0.01$) καθώς και μεταξύ των ομάδων Π4 και Π5 ($p < 0.01$). Οι διαφορές των ομάδων αυτών είναι ορατές από το 12^ο μήνα πειραματισμού και εμφανείς από το 18^ο μήνα (εικ. 8). Οι διαφορές μεταξύ των άλλων ομάδων δεν είναι στατιστικά σημαντικές ($p > 0.05$).

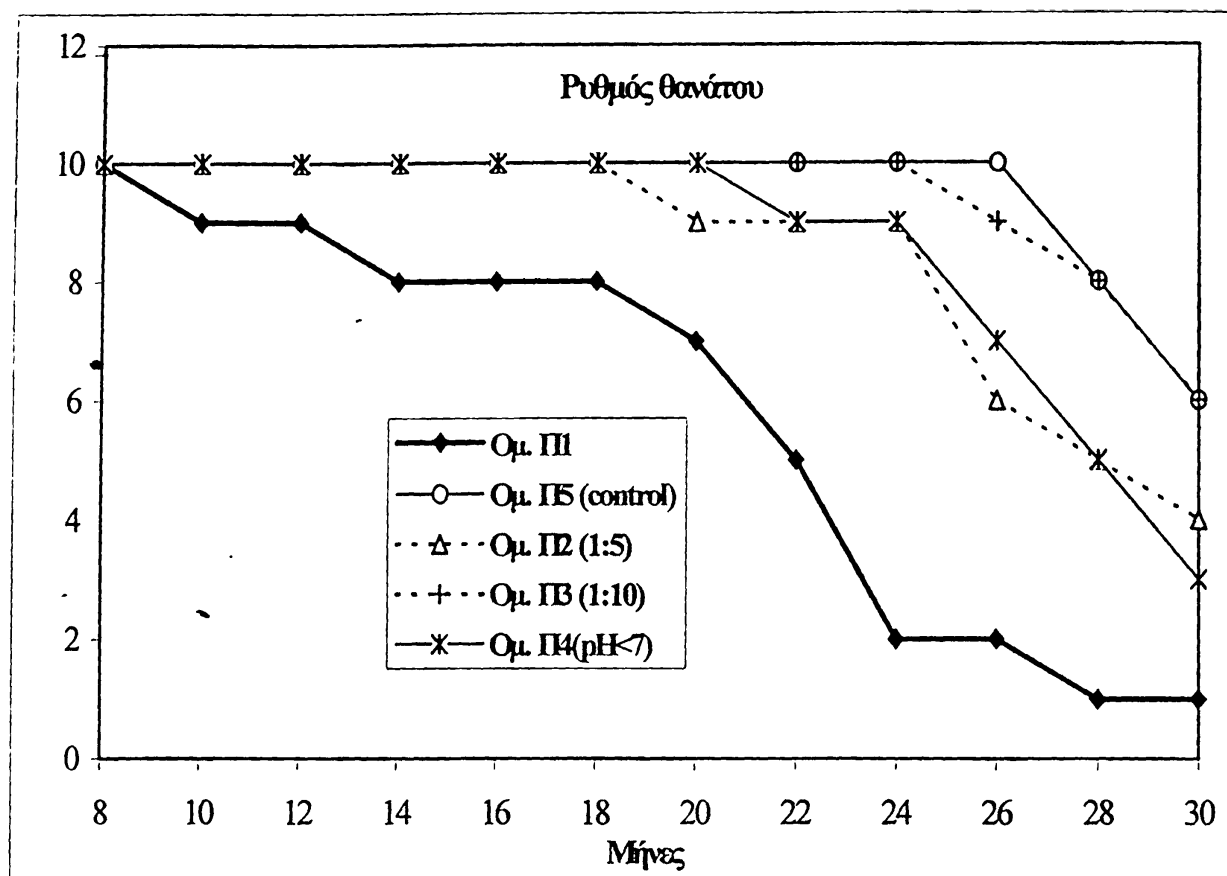


Εικόνα 8: Μεταβολή του βάρους

6.2.2 Ρυθμός Θανάτου

Κατά τη διάρκεια του πειράματος, οι ρυθμοί θανάτου πειραματοζώων που εμφανίζονται για κάθε ομάδα είναι διαφορετικοί, και όπως φαίνεται και στην εικόνα 9,

στην ομάδα Π1 η θνησιμότητα είναι μεγαλύτερη και αρχίζει πιο νωρίς σε σχέση με τις άλλες ομάδες (ορατή από το 12^ο μήνα και εμφανής από το 18^ο μήνα). Επίσης φαίνεται στο διάγραμμα ότι η ομάδα Π3 έχει σημαντικά καλύτερη επιβίωση από τις ομάδες Π2 και Π4.



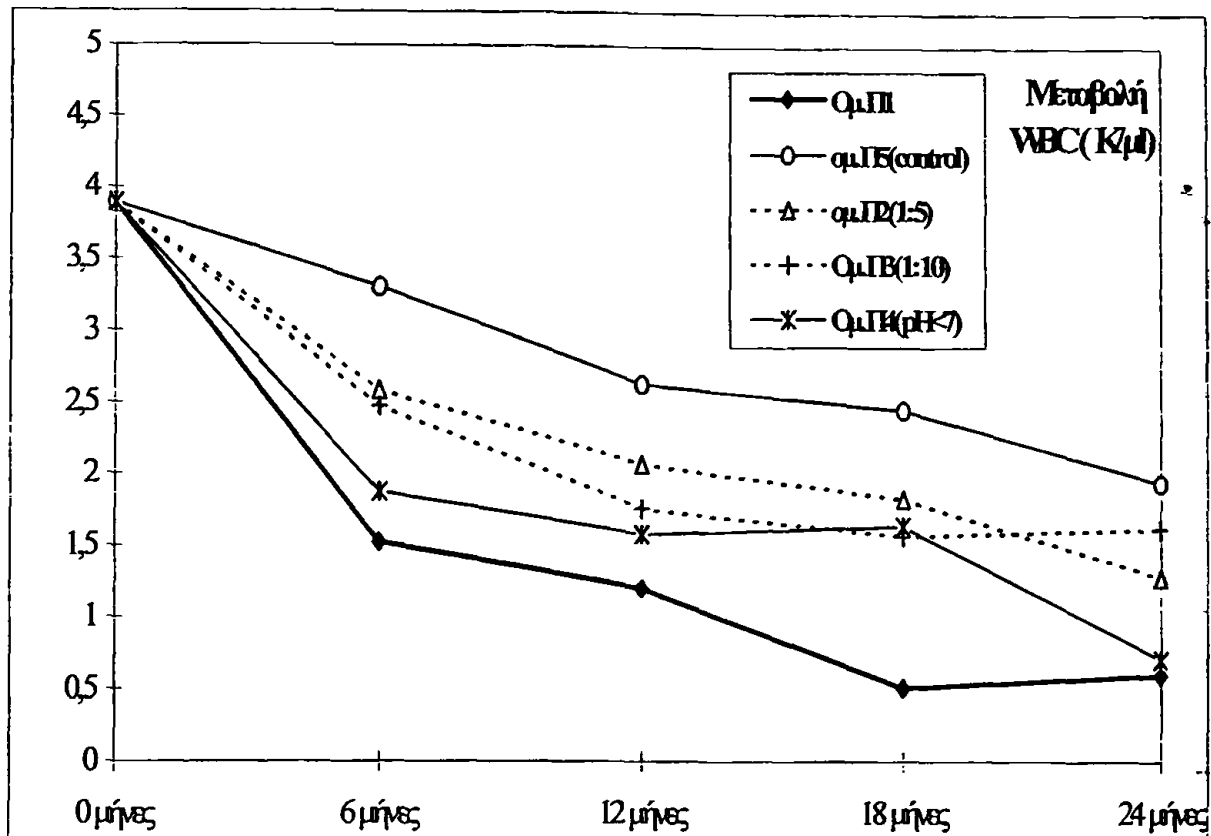
Εικ. 9: Ρυθμός θανάτου πειραματοζώων κατά τη διάρκεια του πειράματος

6.2.3 Αιματολογικές παράμετροι

Από τη γενική αίματος διαπιστώθηκε σημαντική μείωση του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων σε όλες τις ομάδες συναρτήσει του χρόνου (εικ 10). Ιδιαίτερα σημαντική παραμένει η διαφορά στον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων μεταξύ των ομάδων Π1 και Π5 σε όλη τη διάρκεια του πειράματος ($p < 0.05$).

Από την (εικ. 10) φαίνεται να υπάρχει σημαντική διαφορά στον πληθυσμό των λευκοκυττάρων μεταξύ των ομάδων Π1(αυτούσιο λύμα) και Π5(ελέγχου) ($p=0.03$ στους 6 μήνες, $p=0.02$ στους 12 μήνες, $p=0.01$ στους 18 μήνες, και $p=0.003$ στους 24 μήνες).

Παρόμοια συμπεριφορά έχει και η ομάδα Π4 (pH:7.0) έναντι της Π5(ελέγχου) ($p=0.04$ στους 6 μήνες, και $p=0.01$ στους 24 μήνες), ενώ κατά την τελευταία περίοδο πειραματισμού (18-24 μήνες) υπάρχει μια σημαντική μείωση του αριθμού των λευκοκυττάρων για αυτήν την ομάδα που φτάνει στα επίπεδα της ομάδας Π1(αυτούσιο λύμα).



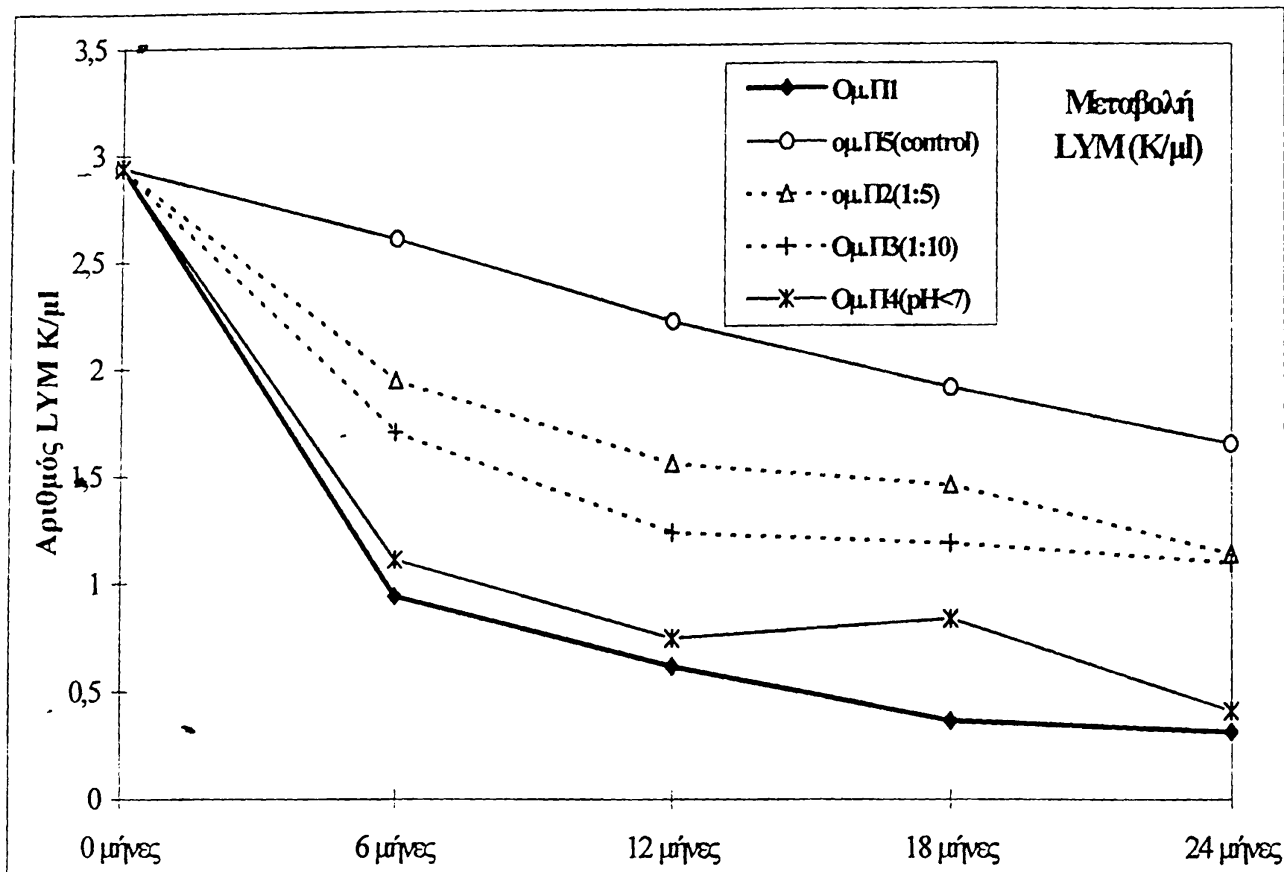
Εικ. 10: Μεταβολές των λευκών αιμοσφαιρίων

Όπως φαίνεται και από το επόμενο διάγραμμα η μείωση των λευκών αιμοσφαιρίων οφείλεται κύρια στην μείωση του αριθμού των λεμφοκυττάρων όπου παρουσιάζεται στατιστική σημαντικότητα μεταξύ των ομάδων Π1 - Π5 ($p=0.005$ στους 6 μήνες, $p=0.01$ στους 12 μήνες, $p=0.001$ στους 18 μήνες, και $p=0.001$ στους 24 μήνες), αλλά και μεταξύ των ομάδων Π4 - Π5 ($p=0.01$ στους 6 μήνες, $p=0.02$ στους 12 μήνες, $p=0.03$ στους 18 μήνες, και $p=0.01$ στους 24 μήνες) (εικ. 11).

Ο αριθμός των ερυθρών αιμοσφαιρίων δεν φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά (πιν. 19) ούτε μεταξύ των ομάδων αλλά ούτε και μεταξύ των διαφόρων χρονικών περιόδων.

Πίν. 19: Μέσος όρος πληθυσμού ερυθρών αιμοσφαιρίων στις ομάδες πειραματισμού

| RBC (M/ul) | 0 Μήνες | 6 Μήνες | 12 Μήνες | 18 Μήνες | 24 Μήνες |
|-------------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| Π1 (αυτουσ. λύμα) | 7.42 | 7.23 | 7.61 | 6.4 | 8.1 |
| Π5 (ελέγχου) | 7.42 | 7.4 | 7.9 | 6.7 | 8.5 |
| Π2 (1:5) | 7.42 | 6.9 | 7.9 | 7.0 | 8.4 |
| Π3 (1:10) | 7.42 | 7.11 | 7.49 | 7.1 | 8.4 |
| Π4 (pH:7.0) | 7.42 | 6.82 | 6.0 | 6.7 | 8.0 |

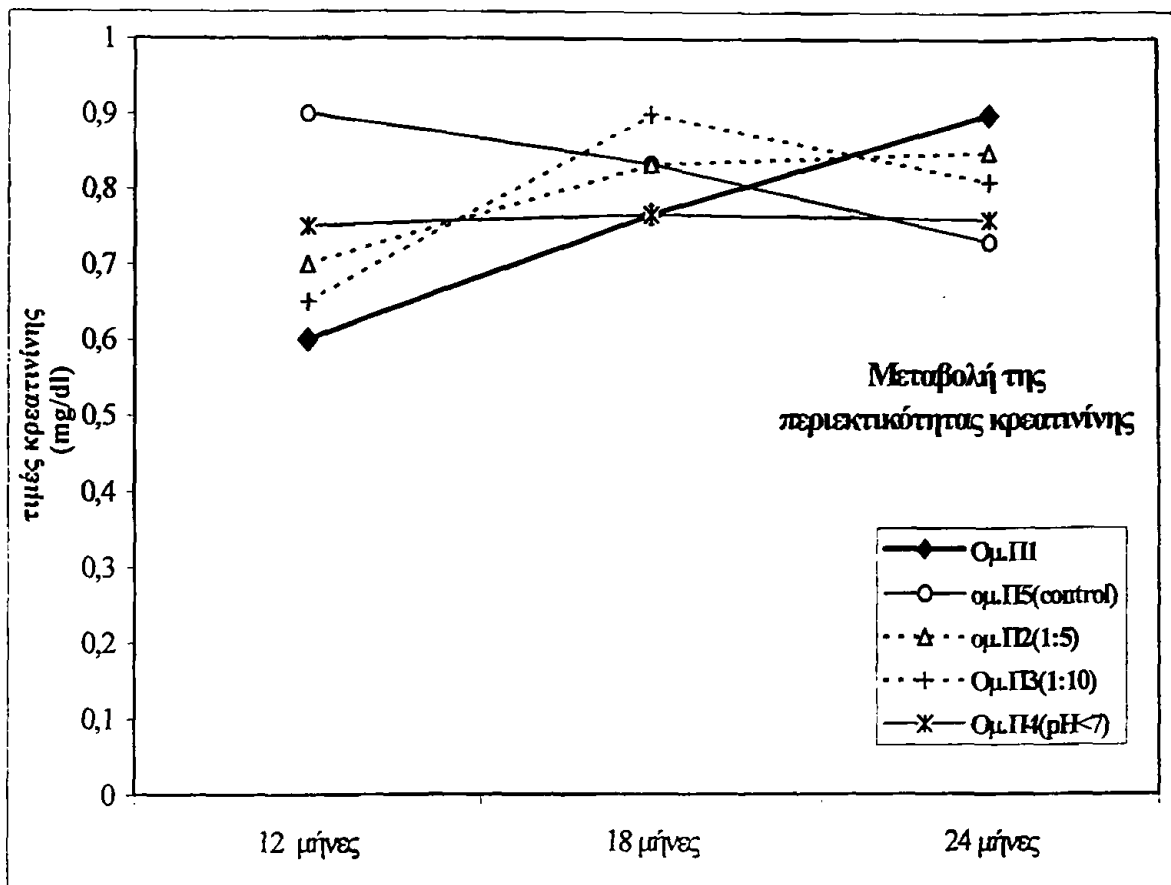


Εικ. 11: Μεταβολές των λεμφοκυττάρων

6.2.4 Βιοχημικές παράμετροι νεφρικής λειτουργίας

Οι βιοχημικές παράμετροι που εξετάστηκαν είναι η κρεατινίνη ορού, δείκτης λειτουργίας των νεφρών, το σάκχαρο ορού δείκτης λειτουργίας του παγκρέατος και τέλος οι τρανσαμινάσες: αμινοτρανσφεράση του ασπαρτικού (AST) και αμινοτρανσφεράση της αλανίνης (ALT) δείκτης της λειτουργίας του ήπατος (εικόνες 12,17,18,19).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του ελέγχου φαίνεται ότι δεν υπάρχει γενικά σημαντική μεταβολή των επιπέδων της κρεατινίνης στον ορό του αίματος των πειραματόζων σε όλες τις ομάδες πειραματισμού (εικ. 12). Παρατηρήθηκε όμως ότι στην ομάδα ΠΙ(αυτούσιο λύμα) (συγκεντρώσεις: από 0.6 έως 0.9mg/dl) υπήρξε μια στατιστικά σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης κρεατινίνης στον ορό ($p=0.04$) μεταξύ των 12 μηνών έκθεσης και της λήξης των 24 μηνών. Για την ομάδα Π4(pH:7.0) (συγκ: από 0.65 έως 0.9mg/dl) η συγκέντρωση κρεατινίνης ήταν σε σταθερά επίπεδα καθόλη τη χρονική διάρκεια του πειράματος ενώ για την ομάδα Π5(ελέγχου) (συγκ.: από 0.73 έως 0.9mg/dl) η συγκέντρωση της κρεατινίνης ήταν ελαφρά αυξημένη στην αρχή και μειώθηκε προς το τέλος της περιόδου έκθεσης.



Εικ. 12: Μεταβολές των επιπέδων κρεατινίνης ορού

Είναι δυνατό διάφορες φυσιολογικές ή παθολογικές καταστάσεις του νεφρού να προκαλέσουν ποσοτικές ή/και ποιοτικές μεταβολές στα απεκκρινόμενα ούρα.

Οι φυσιολογικές τιμές φυσικοχημικών ή βιοχημικών παραμέτρων καθώς και τα αποτελέσματά μας από τα ούρα των πειραματοζώων φαίνονται στους πίνακες 20, 21.

Πίν. 20: Φυσιολογικές τιμές παραμέτρων στα ούρα (Ringler DH. et al., 1979)

| | Ανάλυση Ούρων |
|--|---------------|
| Ειδικό βάρος | 1.022 – 1.050 |
| pH | 7.0 |
| Πρωτεΐνες (g/l) | <3 |
| Κρεατινίνη (mg/100g body weight/24 h) | 5 – 7 |
| Όγκος ούρων (ml/100g body weight/24 h) | 3.3 |

Οι παράμετροι των ούρων 24 ώρου προσφέρουν μια εκτίμηση της νεφρικής λειτουργίας, κυμαίνονται δε σε φυσιολογικά επίπεδα συγκρινόμενες τόσο με τις τιμές της ομάδας Π5 (ελέγχου) όσο και με τις τιμές των παραμέτρων αυτών στη βιβλιογραφία.

Η γλυκόζη, η χολερυθρίνη, η κετόνη και το ουροχολινογόνο είναι ελάχιστα ανιχνεύσιμα στις περισσότερες ομάδες.

Μικρή αιματοουρία, 10-25 ερυθρά αιμοσφαίρια ανά μικρολίτρο, εμφανίζεται στις ομάδες Π2(1:5), Π3(1:10), Π4(pH:7.0) και Π1(αυτούσιο λύμα) καθόλη τη διάρκεια του 2^{ου} έτους πειραματισμού έως το 18^ο μήνα. Στο τέλος της έκθεσης, οι ομάδες Π1(αυτούσιο λύμα) και Π4(pH:7.0) παρουσίασαν αντίστοιχα 80 και 200 ερυθρά αιμοσφ./μλ.

Το pH των ούρων κυμάνθηκε στα φυσιολογικά επίπεδα καθόλη τη διάρκεια της πειραματικής έκθεσης από 6.5 – 8.0.

Οι πρωτεΐνες των ούρων επίσης κυμάνθηκαν εντός των ορίων από 0.1 έως και >0.2 g/l ανά 100 g βάρους σώματος ανά ούρα 24 ώρου. Η πρωτεϊνουρία είναι φυσικό φαινόμενο στους επίμυες (0.4 – 1g/l ούρων) καθώς και στα σκυλιά (0.1 – 20 g/l ούρων) ενώ στους ανθρώπους είναι από 0.03 – 0.08 g/l (Ringler DH. et al.,1979).

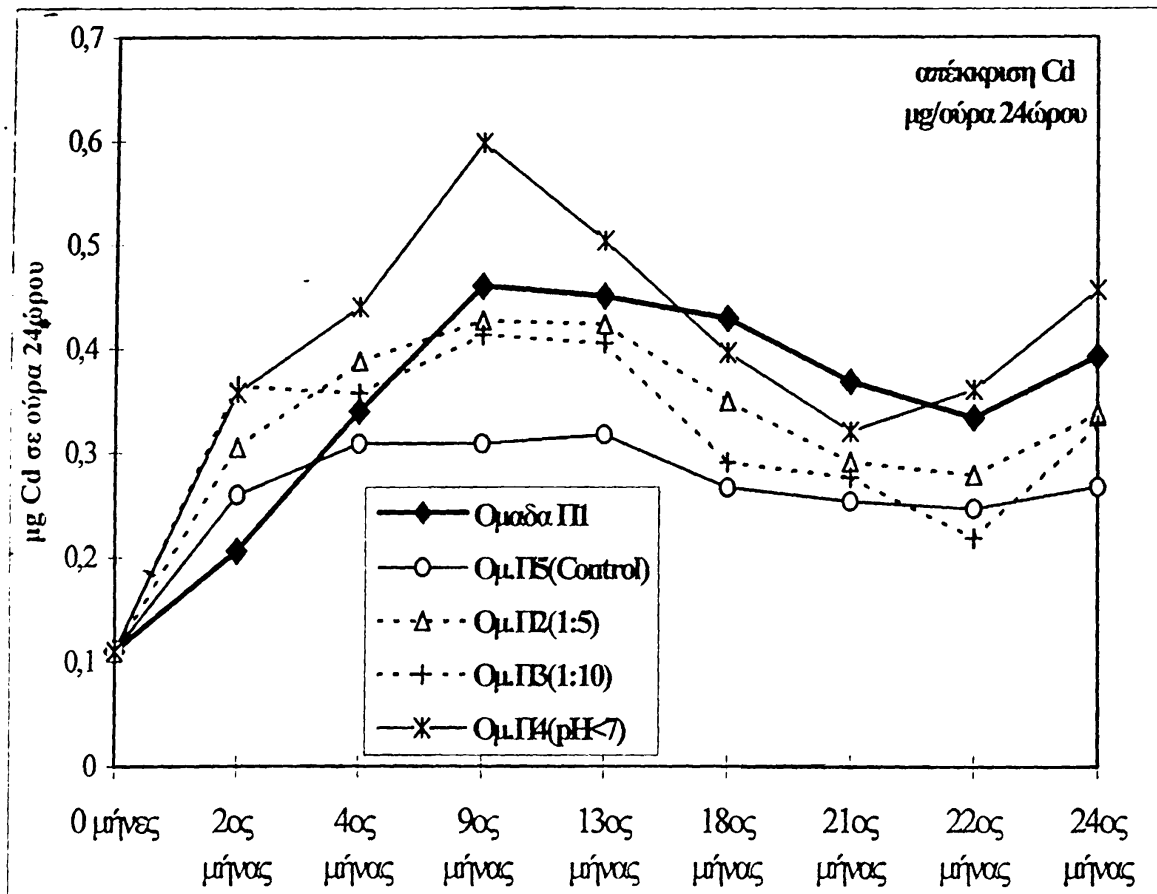


Πίν. 21: Εξετάσεις ούρων στις ομάδες πειραματισμού

| | 2 μήνες | 12 μήνες | | | | | 18 μήνες | | | | | 24 μήνες | | | | |
|--------------------|---------|----------|-----|------|-----|------|----------|-----|-----|-----|-----|----------|-----|-----|-----|-----|
| | Ελέγχου | Π1 | Π5 | Π2 | Π3 | Π4 | Π1 | Π5 | Π2 | Π3 | Π4 | Π1 | Π5 | Π2 | Π3 | Π4 |
| Γλυκόζη(g/l) | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Χολερυθρίνη | + | — | — | — | + | — | + | — | + | + | + | + | — | — | — | — |
| Κετόνη(g/l) | — | 0.05 | — | 0.05 | — | 0.05 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Ερυθρ. Αιμοσφ./μl | — | — | — | 17 | 17 | 10 | 10 | — | 10 | 25 | — | 80 | — | — | — | 200 |
| pH | 7.3 | 7.2 | 7.5 | 7.2 | 7.5 | 6.7 | 7.0 | 7.5 | 8.0 | 7.0 | 7.0 | 7.0 | 7.0 | 7.0 | 7.0 | 6.5 |
| Πρωτεΐνες (mg/dl) | 1 | >20 | 1 | >20 | >20 | >20 | >20 | >14 | >20 | >20 | >20 | >20 | >14 | >8 | >14 | >14 |
| Ουροχολ/νο (mg/dl) | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |

6.2.5 Απέκκριση μετάλλων στα ούρα

Όσον αφορά τη λειτουργία των νεφρών σημαντικό στοιχείο αποτελεί και η απέκκριση των μετάλλων μέσω των ούρων και ιδιαίτερα οι απεκκρίσεις του Pb και του Cd.

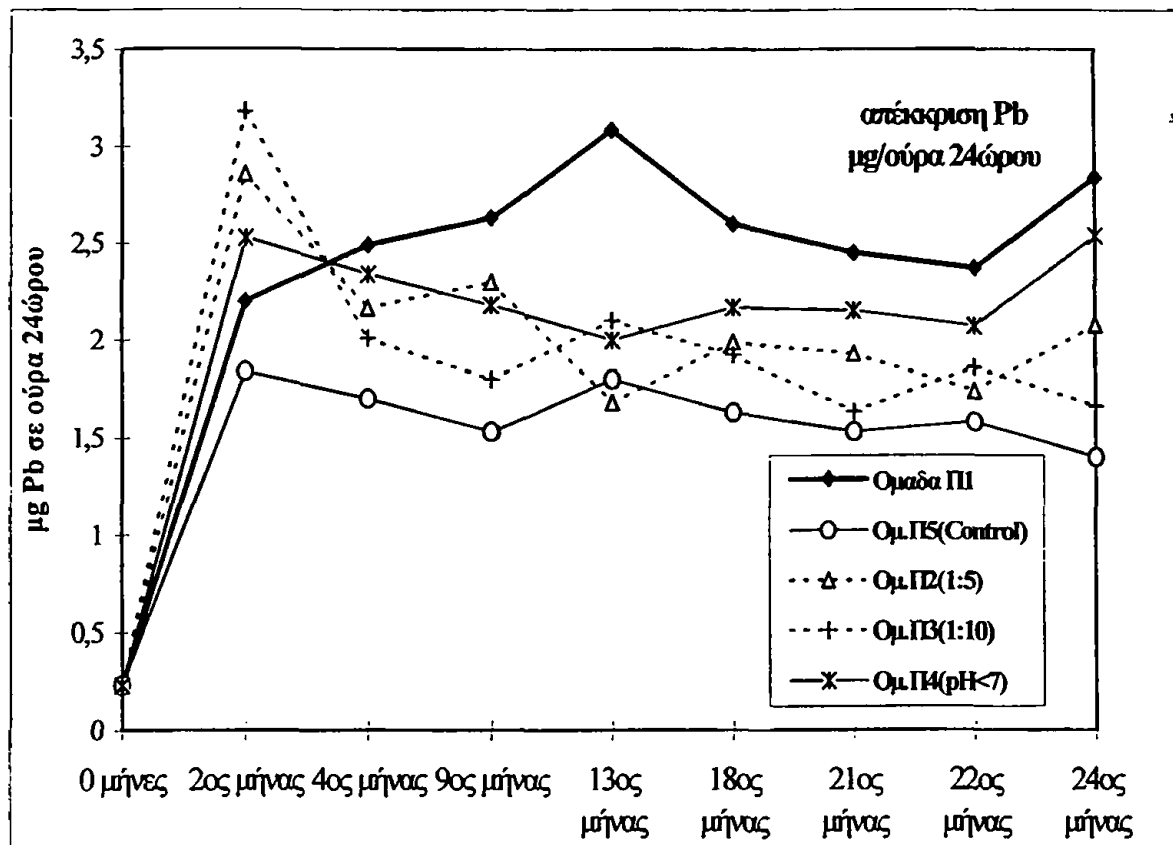


Εικ. 13: Μεταβολές συγκεντρώσεων Cd των ούρων

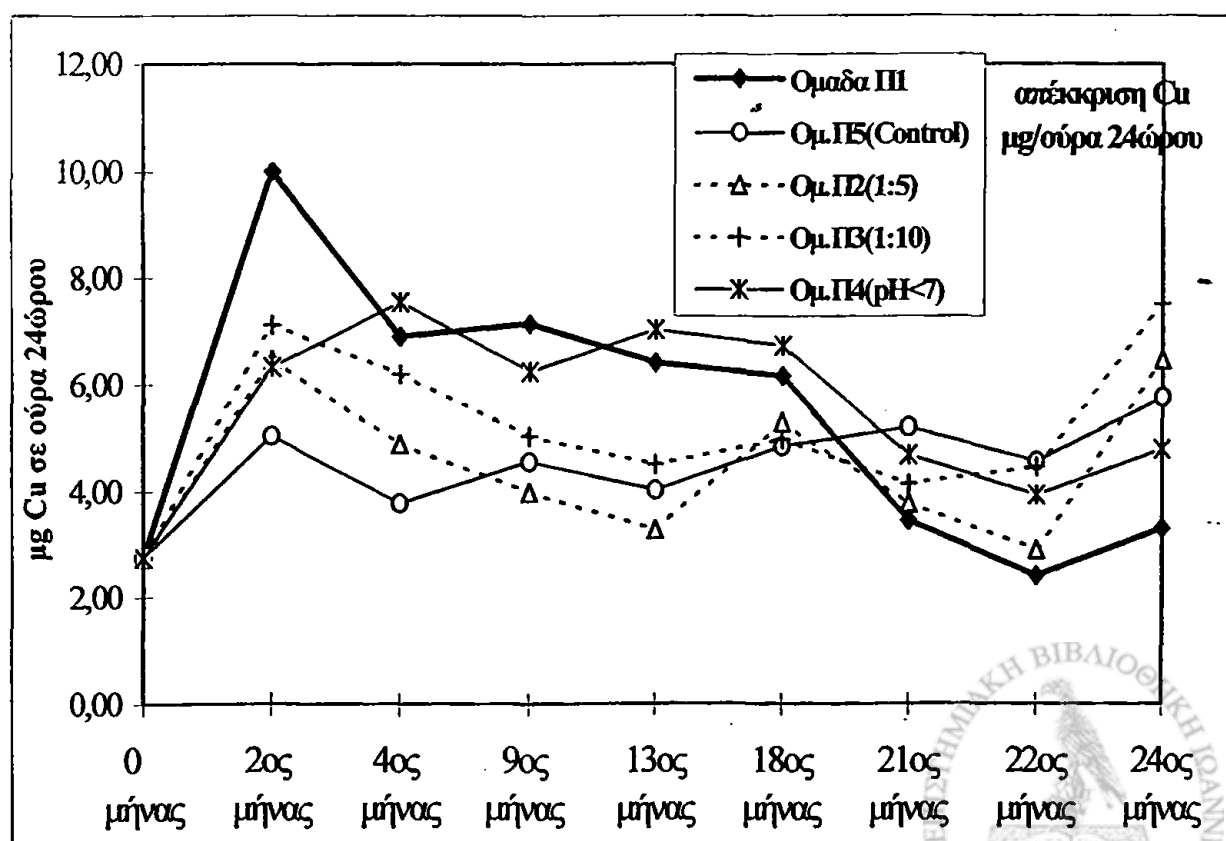
Από τα αποτελέσματά μας φαίνεται (εικ. 13) ότι η απέκκριση Cd είναι σχεδόν σταθερή για την ομάδα Π5(ελέγχου) (από 0.11 μg/g έως 0.32 μg/g) καθόλη τη διάρκεια του πειράματος, ενώ για τις ομάδες Π2(1:5) (από 0.11 μg/g έως 0.43 μg/g) και Π3(1:10) (από 0.11 μg/g έως 0.41 μg/g) φαίνεται να υπάρχει μικρή διακύμανση. Οι μεγαλύτερες απεκκρίσεις Cd παρουσιάζονται στις ομάδες ΠΙΙ(αυτούσιο λύμα) (από 0.11 μg/g έως 0.46 μg/g) και Π4 (pH:7.0) (από 0.11 μg/g έως 0.60 μg/g). Μεταξύ των ομάδων ΠΙΙ και Π5 σχεδόν για όλη την περίοδο πειραματισμού, υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.01$).

Παρατηρήθηκε σταθερή και χαμηλή απέκκριση Pb (εικ. 14) για την ομάδα Π5(ελέγχου) (από 0.23 μg/g έως 1.84 μg/g) καθώς και για τις Π2(1:5) και Π3(1:10) εκτός από την δειγματοληψία του 2^{ου} μήνα έκθεσης στο λύμα. Για τις ομάδες Π4(pH:7.0) και ΠΙΙ(αυτούσιο λύμα), παρατηρήθηκε σημαντικά μεγαλύτερη απέκκριση Pb (από 0.23 μg/g έως 2.54 μg/g) και (από 0.23 μg/g έως 3.09 μg/g) αντίστοιχα, ενώ

υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.01$) μεταξύ των ομάδων ΠΙ και Π5 σχεδόν για όλη την περίοδο πειραματισμού.



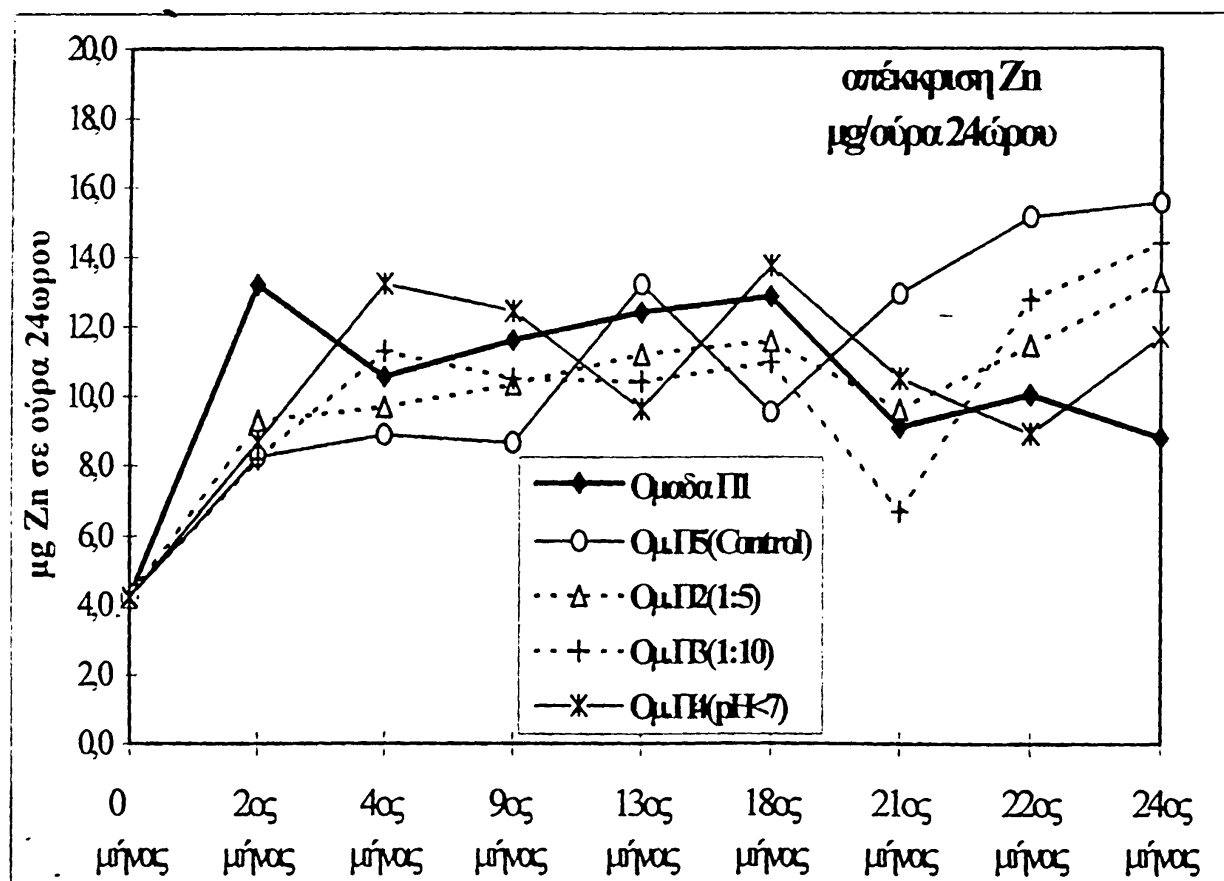
Εικ. 14: Μεταβολές συγκεντρώσεων Pb των ούρων



Εικ. 15: Μεταβολές συγκεντρώσεων Cu των ούρων

Η απέκκριση Cu (εικ. 15) στα ούρα είχε μικρές διακυμάνσεις μεταξύ των ομάδων. Οι συγκεντρώσεις Cu κυμάνθηκαν ως εξής: Π5(ελέγχου) (από 2.76 $\mu\text{g/g}$ έως 5.76 $\mu\text{g/g}$), Π2(1:5) (από 2.76 $\mu\text{g/g}$ έως 6.47 $\mu\text{g/g}$), Π3(1:10) (από 2.76 $\mu\text{g/g}$ έως 7.51 $\mu\text{g/g}$), Π4(pH:7.0) (από 2.76 $\mu\text{g/g}$ έως 7.55 $\mu\text{g/g}$), και Π1(αυτούσιο λύμα) (από 2.76 $\mu\text{g/g}$ έως 10.01 $\mu\text{g/g}$). Αυτό που παρατηρείται είναι μια αυξημένη απέκκριση Cu για τις ομάδες Π1 και Π4 μέχρι τους 18 μήνες έκθεσης.

Η απέκκριση Zn (εικ. 16) δεν δείχνει σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων καθόλη την πειραματική περίοδο. Ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) (από 4.23 $\mu\text{g/g}$ έως 13.2 $\mu\text{g/g}$), Π4(pH:7.0) (από 4.23 $\mu\text{g/g}$ έως 13.74 $\mu\text{g/g}$), Π2(1:5) (από 4.23 $\mu\text{g/g}$ έως 13.30 $\mu\text{g/g}$) και Π3(1:10) (από 4.23 $\mu\text{g/g}$ έως 14.40 $\mu\text{g/g}$). Μετά το 18^ο μήνα πειραματισμού παρατηρείται μια μικρή αύξηση (περίπου 30%) στην απέκκριση Zn για τις ομάδες Π5 και Π3 ενώ φαίνεται να υπάρχει αντίστοιχη μείωση για τις ομάδες Π1 και Π4.



Εικ. 16: Μεταβολές συγκεντρώσεων Zn των ούρων

6.2.6 Βιοχημικές παράμετροι ηπατικής λειτουργίας

Δύο από τα σημαντικότερα ένζυμα που αποτελούν δείκτες της ηπατικής λειτουργίας είναι η αμινοτρανσφεράση του ασπαρτικού (AST) και η αμινοτρανσφεράση της αλανίνης (ALT).



Τα επίπεδα των τρανσαμινασών AST και ALT σε διάφορους ανθρώπινους ιστούς δίνονται στον παρακάτω πίνακα (πιν. 22) (Τρακατέλλης Α., 1993).

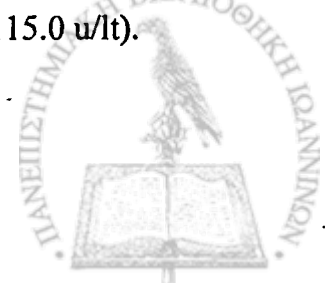
Πίν. 22: Φυσιολογικά επίπεδα AST και ALT σε διάφορους ανθρώπινους ιστούς

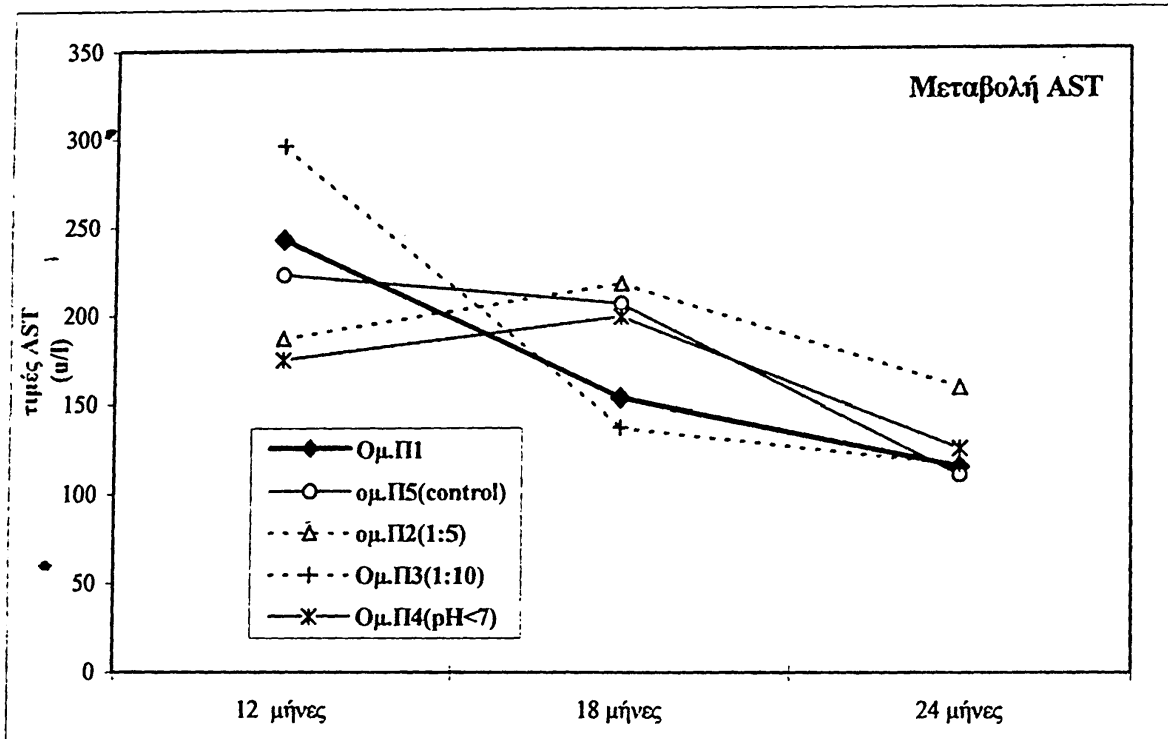
| | Καρδιά | Ήπαρ | Σκελετικοί μύες | Νεφροί | Πάγκρεας | Ορός |
|---|--------|------|-----------------|--------|----------|------|
| AST (διεθνείς μονάδες/g νωπού ιστού ή λίτρο ορού) | 156 | 142 | 99 | 91 | 28 | 10 |
| ALT (διεθνείς μονάδες/g νωπού ιστού ή λίτρο ορού) | 7 | 44 | 4.8 | 19 | 2 | 10 |

Κάθε αύξηση του επιπέδου ενός από αυτά τα ένζυμα στον ορό (πάνω από 20 διεθνείς μονάδες /λίτρο ορού), είναι ενδεικτική βλάβης κάποιου ιστού ή οργάνου. Έτσι υψηλά επίπεδα της AST και της ALT στον ορό υποδηλώνουν βλάβη του ήπατος, διότι η νέκρωση των ηπατικών κυττάρων απελευθερώνει την είσοδο των ενζύμων στο αίμα. Στην οξεία ηπατίτιδα η ALT μπορεί να φτάσει και τις 600 μονάδες/λίτρο ενώ η AST τις 400 μονάδες/λίτρο. Η αύξηση της AST χωρίς αύξηση της ALT μπορεί να υποδηλώνει βλάβη της καρδιάς, των σκελετικών μυών ή του παγκρέατος (Τρακατέλλης Α., 1993).

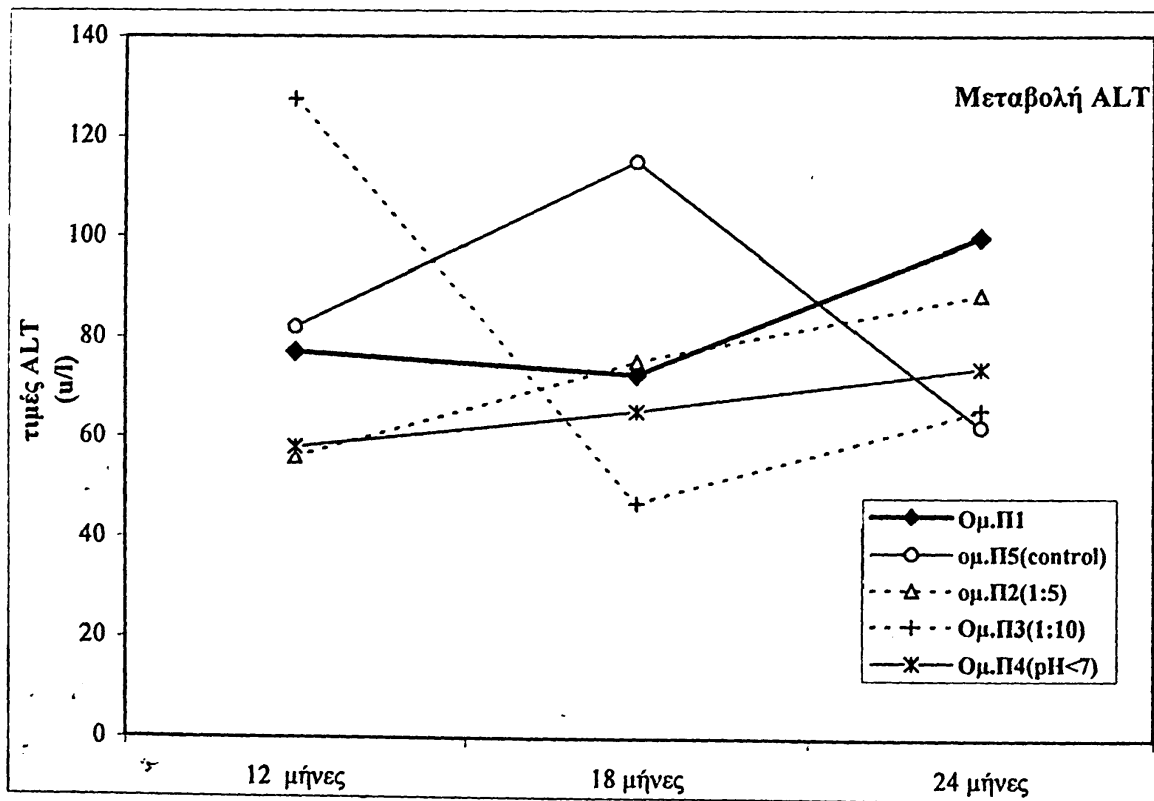
Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 17) παρατηρούμε ότι για την AST δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές ($p > 0.05$) στην πορεία που ακολουθούν τα επίπεδα της μεταξύ των ομάδων κατά την διάρκεια της έκθεσης. Η συγκέντρωση της AST ξεκινά από υψηλά σχετικά επίπεδα το 12^ο μήνα πειραματισμού και ακολουθεί πτωτική πορεία έως τον 24^ο, μήνα κυρίως για την ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα). Οι διακυμάνσεις της AST για κάθε ομάδα είναι: Π1 (από 115 u/lit έως 243 u/lit), Π2(από 159 u/lit έως 217.7 u/lit), Π3 (από 116 u/lit έως 296 u/lit), Π4 (από 125.3 u/lit έως 175 u/lit) και Π5 (από 110.3 u/lit έως 223 u/lit).

Επίσης δεν υπάρχει στατιστική σημαντικότητα για την ALT μεταξύ των ομάδων σε όλη τη διάρκεια του πειράματος ($p > 0.05$). Η συγκέντρωση της ALT για την ομάδα Π1 αρχίζει από σχετικά μικρά επίπεδα (12 μήνες) και φτάνει (24 μήνες) σε αρκετά υψηλότερα επίπεδα (εικ. 18). Οι διακυμάνσεις της ALT για κάθε ομάδα είναι: Π1 (από 72.7 u/lit έως 100 u/lit), Π2(από 56 u/lit έως 88.7 u/lit), Π3 (από 47.0 u/lit έως 127.5 u/lit), Π4 (από 58 u/lit έως 74 u/lit) και Π5 (από 62.3 u/lit έως 115.0 u/lit).





Εικ. 17: Μεταβολή της AST

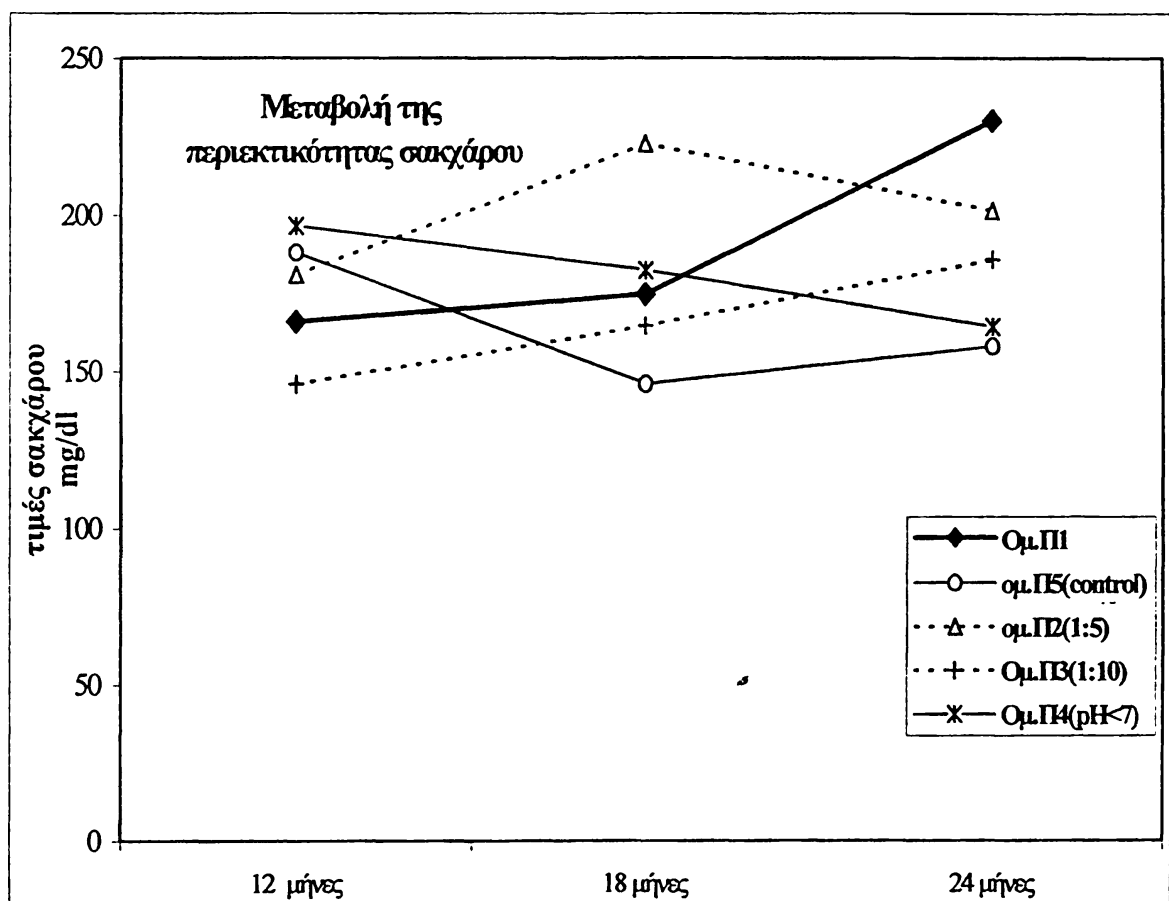


Εικ. 18: Μεταβολή της ALT



6.2.7 Βιοχημικές παράμετροι παγκρεατικής λειτουργίας

Η μεταβολή της περιεκτικότητας του σακχάρου στον ορό του αίματος δείχνει τυχόν μεταβολές που συμβαίνουν στη λειτουργία του παγκρέατος. Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 19) δεν φαίνεται να υπάρχουν έντονες διακυμάνσεις μεταξύ των ομάδων. Τα εύρη των συγκεντρώσεων για κάθε ομάδα είναι: Π1 (από 166 mg/dl έως 230 mg/dl), Π2(από 181 mg/dl έως 222.7 mg/dl), Π3 (από 146 mg/dl έως 185.7 mg/dl), Π4 (από 164.3 mg/dl έως 196.5 mg/dl) και Π5 (από 146 mg/dl έως 188 mg/dl).



Εικ. 19: Μεταβολές συγκέντρωσης σακχάρου στον ορό.

6.3 ΗΛΕΚΤΡΟΚΑΡΔΙΟΓΡΑΦΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όπως έχει αναφερθεί, λίγο πριν τη θανάτωση των πειραματοζώων γινόταν ηλεκτροκαρδιογραφικός έλεγχος. Οι καταγραφές γινόταν για τις απαγωγές I, II, III, AVR, AVL και AVF.

Η διάγνωση των διαφόρων καρδιακών αρρυθμιών μπορεί να γίνει και από τις κλασσικές, διπολικές απαγωγές I, II και III οι οποίες δίνουν πληροφορίες για τις

χρονικές αλληλοσυσχετίσεις μεταξύ των διαφόρων επαρμάτων του καρδιακού παλμού.

Από την άλλη πλευρά όταν απαιτείται η διάγνωση βλάβης είτε στο μυοκάρδιο των κοιλιών ή των κόλπων είτε στο σύστημα αγωγής των διεγέρσεων, ενδιαφέρει πάρα πολύ η απαγωγή που χρησιμοποιείται, γιατί οι ανωμαλίες που εμφανίζονται στο μυοκάρδιο μεταβάλλουν τη μορφή του ηλεκτροκαρδιογραφήματος κατά τρόπο σημαντικό σε ορισμένες απαγωγές χωρίς να επηρεάζονται άλλες απαγωγές. Στις περιπτώσεις αυτές βοηθούν και οι ενισχυμένες μονοπολικές απαγωγές των άκρων, AVR, AVL και AVF.

Αρκετά πειραματόζωα εμφάνισαν διάφορες ηλεκτροκαρδιογραφικές διαταραχές, όπως ηλεκτροκαρδιογραφικά σημεία μυοκαρδιακής ισχαιμίας, διαταραχές της καρδιακής συχνότητας όπως κολπική ταχυκαρδία ή βραδυκαρδία, διαταραχές της ηλεκτρικής αγωγής με την μορφή κολποκοιλιακών αποκλεισμών και του ρυθμού με την μορφή πρώϊμων ή έκτακτων συστολών. Οι ηλεκτροκαρδιακές επιδράσεις άρχισαν να εμφανίζονται μετά τους 12 μήνες πειραματισμού κυρίως στην ομάδα χορήγησης αυτούσιου λύματος (Π1), της οποίας τα ζώα εμφάνισαν από τον 18^ο μήνα πειραματισμού σημαντική φλεβοκομβική ταχυκαρδία σε σύγκριση με τις άλλες ομάδες και την ομάδα ελέγχου (πιν. 23).

Πίν. 23: Μέσοι όροι της καρδιακής συχνότητας (f) για κάθε ομάδα σε κάθε περίοδο.

| ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (f) | | | | | |
|------------------------|--------------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| | Ομάδα Π1 (αυτούσιο λύμα) | Ομάδα Π5 (ελέγχου) | Ομάδα Π2 (αρ. 1:5) | Ομάδα Π3 (αρ. 1:10) | Ομάδα Π4 (pH: 7.0) |
| 12 μήνες | 250 ± 30 | 250 ± 30 | 250 ± 20 | 230 ± 20 | 230 ± 20 |
| 18 μήνες | 425 ± 50 | 300 ± 40 | 360 ± 25 | 350 ± 30 | 320 ± 30 |
| 24 μήνες | 400 ± 25 | 350 ± 25 | 320 ± 40 | 360 ± 30 | 350 ± 20 |

Άλλες ηλεκτροκαρδιογραφικές διαταραχές που καταγράφηκαν στα πειραματόζωα των διαφόρων ομάδων εμφανείς κυρίως στις απαγωγές του κατώτερου (οπίσθιου) τοιχώματος (απαγωγές II, III και AVF) φαίνονται στις εικόνες 20, 21 όπου χρησιμοποιείται ως πιο ενδεικτική η απαγωγή AVF.

Στην ομάδα Π1 (εικ. 20) φαίνεται η φλεβοκομβική ταχυκαρδία τον 18^ο μήνα του πειραματισμού και ο πλήρης κολποκοιλιακός αποκλεισμός κατά τον 24^ο μήνα, ενώ στην (εικ. 21) η εμφάνιση έκτακτων κοιλιακών συστολών (απαγωγή I και II) και πτώση του S-T στους 24 μήνες (απαγωγή II).

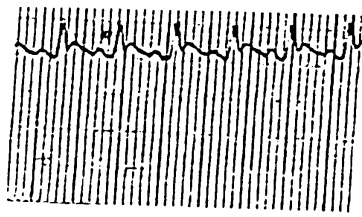


Μικρή αύξηση της καρδιακής συχνότητας παρατηρείται επίσης στην ομάδα Π2 και έκτακτες κοιλιακές συστολές στους 18 και 24 μήνες αντίστοιχα (εικ. 20) καθώς και στην απαγωγή ΙΙΙ και ΑVF (εικ. 21). Στις ομάδες Π3 και Π4 δεν καταγράφηκαν ηλεκτροκαρδιογραφικές διαταραχές πλὴν μικρῆς φλεβοκομβικῆς ταχυκαρδίας. Οι εμφανισθείσες ηλεκτροκαρδιογραφικές διαταραχές στις ομάδες σε όλους τους χρόνους πειραματισμού συνοψίζονται στον κάτωθι πίνακα (. 24).

Πιν. 24: Ηλεκτροκαρδιογραφικές διαταραχές στα ζώα όλων των ομάδων

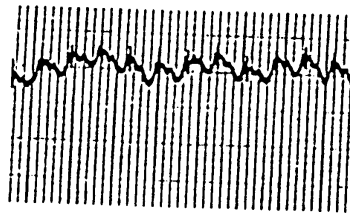
| | 18 μήνες | | | | 24 μήνες | | | |
|--------------|------------|--------------|-----------|---------------------|------------|--------------|-----------|---------------------|
| | Ταχυκαρδία | Εκτ. Συστολ. | Πτώση S-T | Κολπ/κοί Αποκλεισμ. | Ταχυκαρδία | Εκτ. Συστολ. | Πτώση S-T | Κολπ/κοί Αποκλεισμ. |
| Π1(αυτ.λύμα) | + | + | + | - | + | + | + | + |
| Π5(ελέγχου) | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Π2(1:5) | ± | + | - | - | ± | + | - | - |
| Π3(1:10) | ± | - | - | - | ± | - | - | - |
| Π4(pH:7.0) | ± | - | - | - | ± | - | - | - |



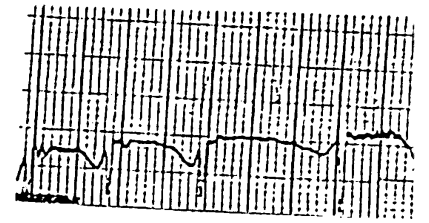


12 μήνες

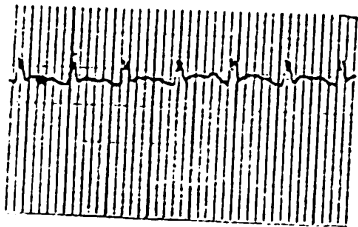
Ομάδα Π1



18 μήνες

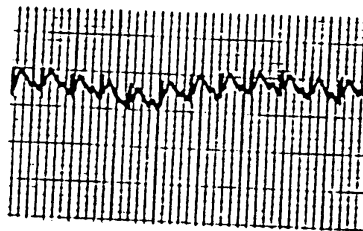


24 μήνες

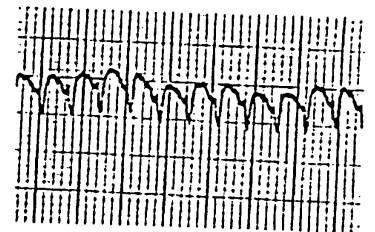


12 μήνες

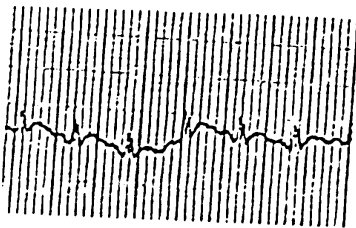
Ομάδα Π5



18 μήνες

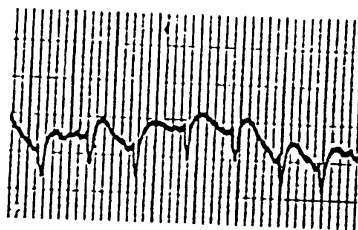


24 μήνες



12 μήνες

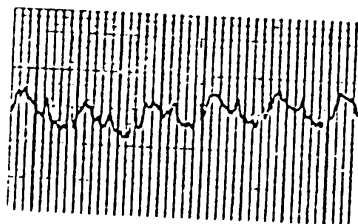
Ομάδα Π2



18 μήνες

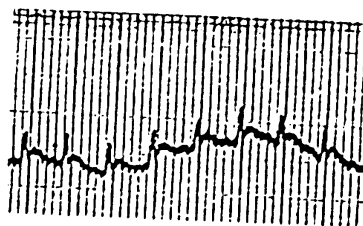


24 μήνες



12 μήνες

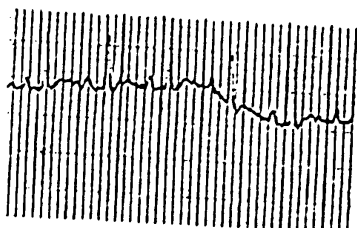
Ομάδα Π3



18 μήνες

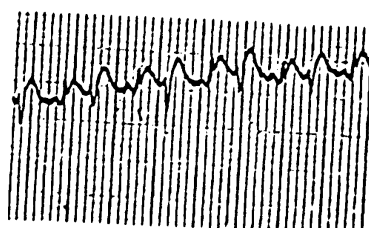


24 μήνες

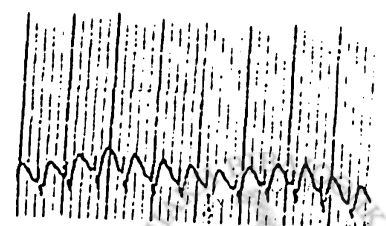


12 μήνες

Ομάδα Π4

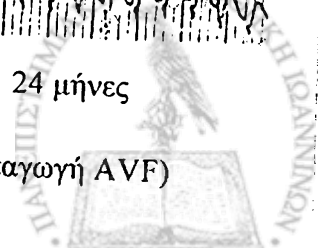


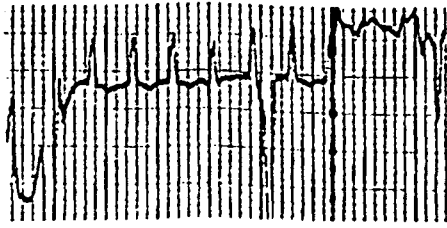
18 μήνες



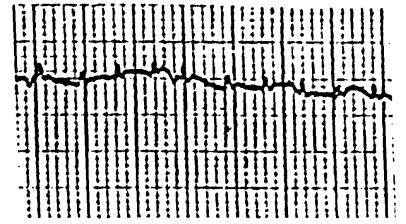
24 μήνες

Εικ. 20: Ηλεκτροκαρδιογραφικές διαταραχές σε ζώα όλων των ομάδων (απαγωγή AVF)

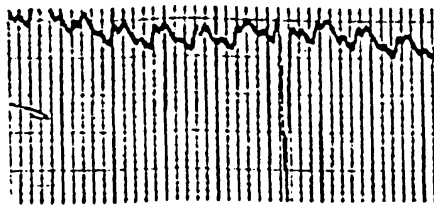




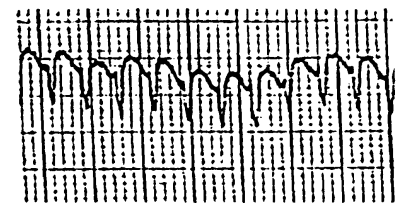
Ομάδα Π1 Απαγωγή (I)



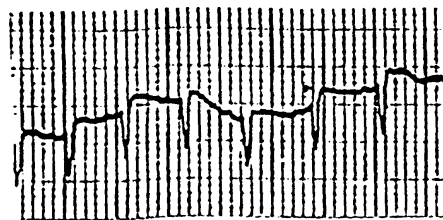
Ομάδα Π1 Απαγωγή (II)



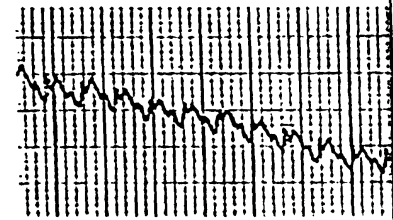
Ομάδα Π1 Απαγωγή (II)



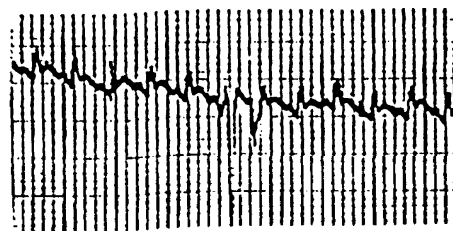
Ομάδα Π5 Απαγωγή (II)



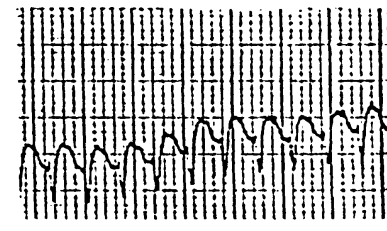
Ομάδα Π2 Απαγωγή (III)



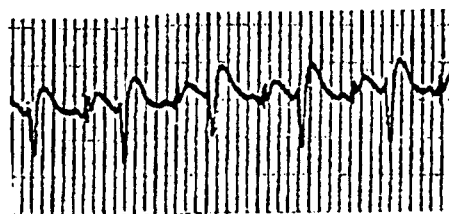
Ομάδα Π2 Απαγωγή (III)



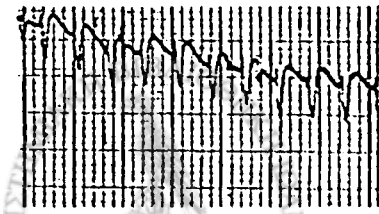
Ομάδα Π2 Απαγωγή (AVF)



Ομάδα Π4 Απαγωγή (III)



Ομάδα Π4 Απαγωγή (III)

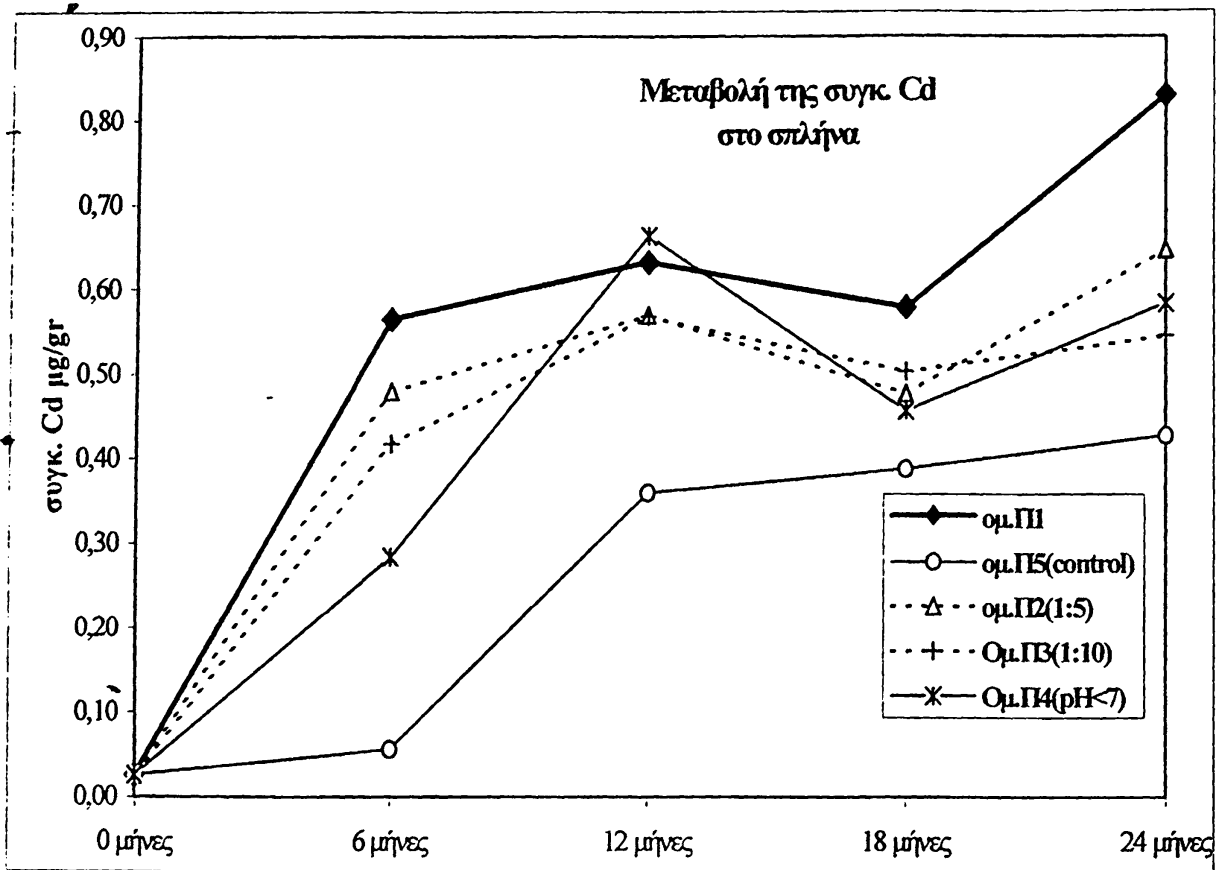


Ομάδα Π4 Απαγωγή (III)

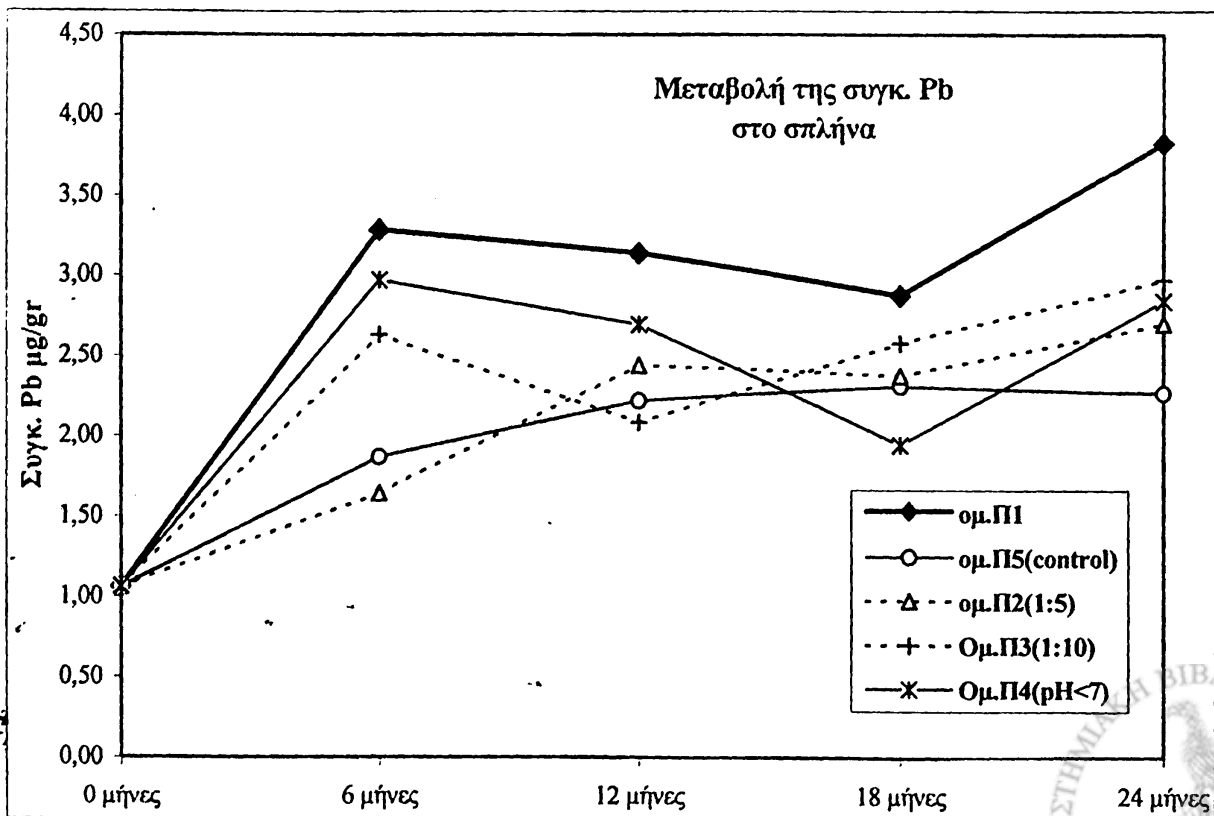
Εικ. 21: Ηλεκτροκαρδιογραφικές διαταραχές σε ζώα όλων των ομάδων (απαγωγές I, II, III, AVF)

6.4 Επίπεδα μετάλλων στα όργανα των ζώων

6.4.1 Σπλήνας



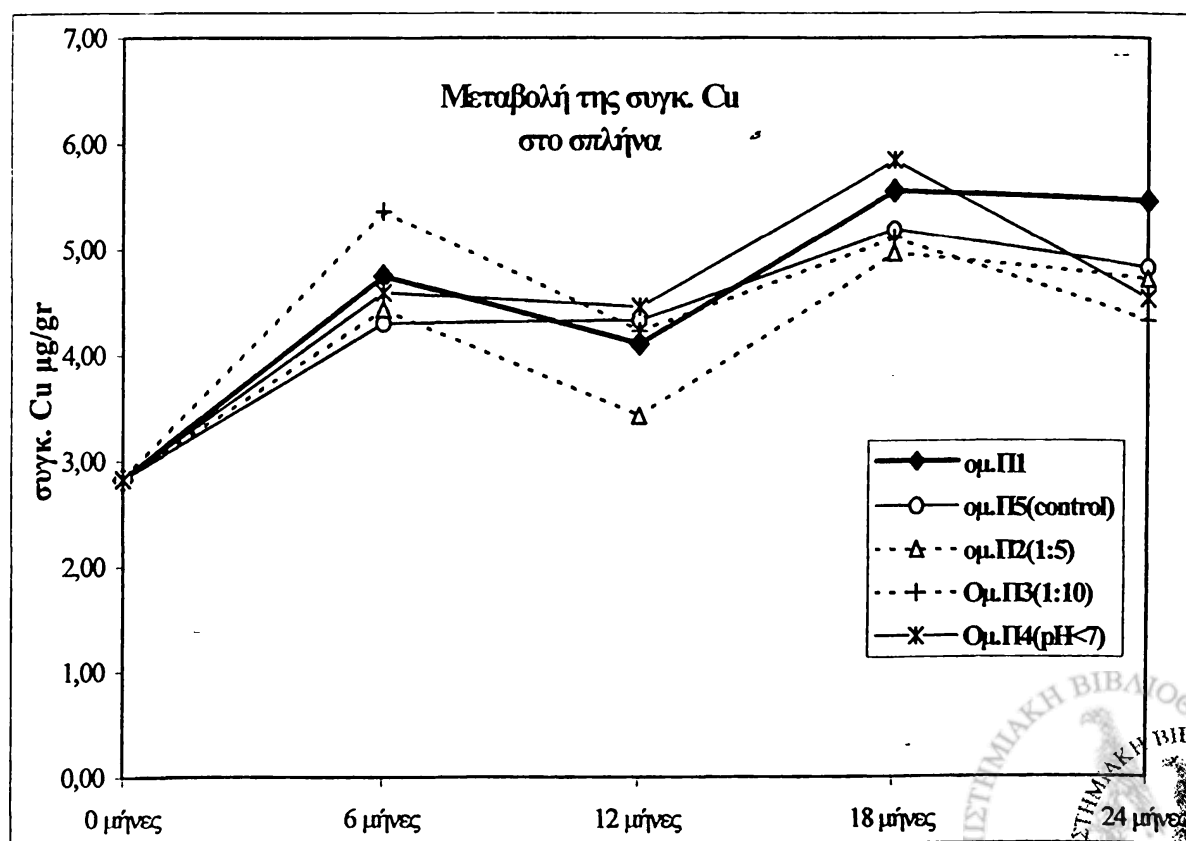
Εικ. 22: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cd στο σπλήνα



Εικ. 23: Μεταβολές της συγκέντρωσης Pb στο σπλήνα

Στα διαγράμματα φαίνεται μια σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση Cd (εικ. 22) για την ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) (από 0.026 $\mu\text{g/g}$ έως 0.8301 $\mu\text{g/g}$) στις περιόδους 0 – 6 μήνες και 18 – 24 μήνες ενώ αντίστοιχα για την ομάδα Π4(pH:7.0) (από 0.026 $\mu\text{g/g}$ έως 0.5829 $\mu\text{g/g}$) παρατηρείται σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης Cd για την περίοδο 0 – 6 μήνες. Επίσης υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.016$) μεταξύ των ομάδων Π1 και Π5 κατά τη λήξη της περιόδου των 24 μηνών. Για τις υπόλοιπες ομάδες Π2(1:5) (από 0.026 $\mu\text{g/g}$ έως 0.6465 $\mu\text{g/g}$), Π3(1:10) (από 0.026 $\mu\text{g/g}$ έως 0.5445 $\mu\text{g/g}$) και Π5(ελέγχου) (από 0.026 $\mu\text{g/g}$ έως 0.427 $\mu\text{g/g}$), η συσσώρευση Cd ήταν σε μικρότερα επίπεδα.

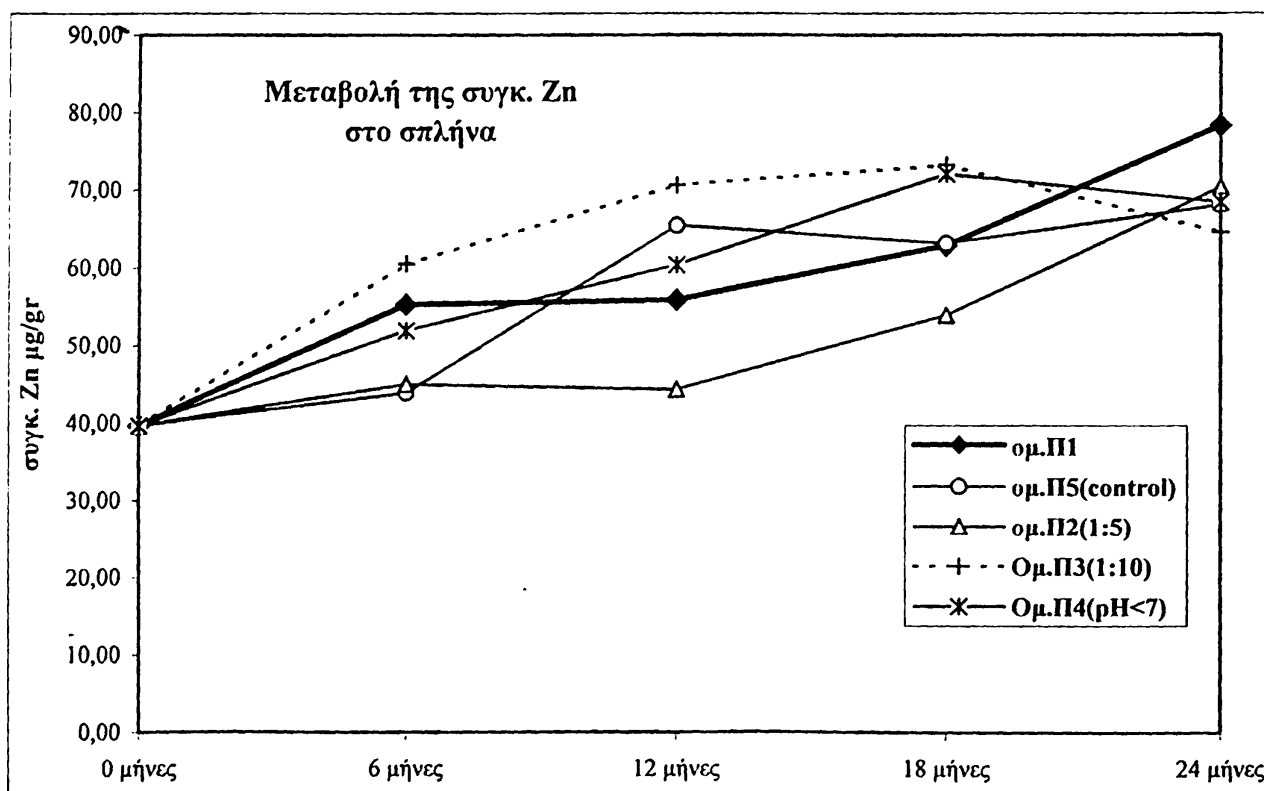
Για το Pb (εικ. 23) παρατηρούμε ότι για την ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα)(από 1.0625 $\mu\text{g/g}$ έως 3.8239 $\mu\text{g/g}$) υπάρχει σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση Pb κατά τις ίδιες περιόδους 0 – 6 μήνες και 18 – 24 μήνες. Όμοια έχουμε και αύξηση στη συγκέντρωση Pb για την ομάδα Π4(pH:7.0) (από 1.0625 $\mu\text{g/g}$ έως 2.8442 $\mu\text{g/g}$) την περίοδο 0 – 6 μήνες. Δεν φαίνεται να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p>0.05$) για τις ομάδες Π1 και Π5 τη χρονική περίοδο των 24 μηνών. Η συσσώρευση Pb είναι σε μικρότερα επίπεδα για τις ομάδες Π2(1:5) (από 1.0625 $\mu\text{g/g}$ έως 2.7014 $\mu\text{g/g}$), Π3(1:10) (από 1.0625 $\mu\text{g/g}$ έως 2.9745 $\mu\text{g/g}$) και Π5(ελέγχου) (από 1.0625 $\mu\text{g/g}$ έως 2.2706 $\mu\text{g/g}$).



Εικ. 24: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cu στο σπλίνα

Στην περίπτωση του Cu (εικ. 24) δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές, τόσο μεταξύ των διαφόρων ομάδων όσο και μεταξύ των διαφόρων χρονικών περιόδων. Τα εύρη συγκεντρώσεων των ομάδων είναι: Π1(αυτούσιο λύμα) (από 2.83 $\mu\text{g/g}$ έως 5.4627 $\mu\text{g/g}$), για την ομάδα Π4(pH:7.0) (από 2.83 $\mu\text{g/g}$ έως 4.539 $\mu\text{g/g}$), για την ομάδα Π2(1:5) (από 2.83 $\mu\text{g/g}$ έως 4.726 $\mu\text{g/g}$), Π3(1:10) (από 2.83 $\mu\text{g/g}$ έως 4.33 $\mu\text{g/g}$) και Π5(ελέγχου) (από 2.83 $\mu\text{g/g}$ έως 4.54 $\mu\text{g/g}$).

Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 25) η συσσώρευση Zn στο σπλήνα των επίμυων δεν διαφέρει σημαντικά μεταξύ της ομάδας Π5(ελέγχου) (από 39.66 $\mu\text{g/g}$ έως 68.11 $\mu\text{g/g}$) και των υπολοίπων της Π3(1:10) (από 39.66 $\mu\text{g/g}$ έως 64.63 $\mu\text{g/g}$) και της Π2(1:5) (από 39.66 $\mu\text{g/g}$ έως 70.40 $\mu\text{g/g}$), ενώ για την Π4(pH:7.0) (από 39.66 $\mu\text{g/g}$ έως 68.49 $\mu\text{g/g}$) και την Π1(αυτούσιο λύμα) (από 39.66 $\mu\text{g/g}$ έως 78.31 $\mu\text{g/g}$) η συσσώρευση Cd σε μεγαλύτερη επίπεδα.

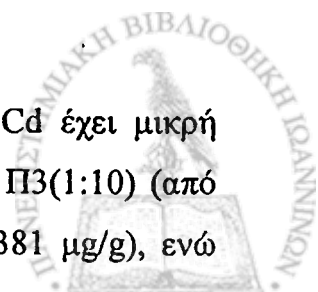


Εικ. 25: Μεταβολές της συγκέντρωσης Zn στο σπλήνα

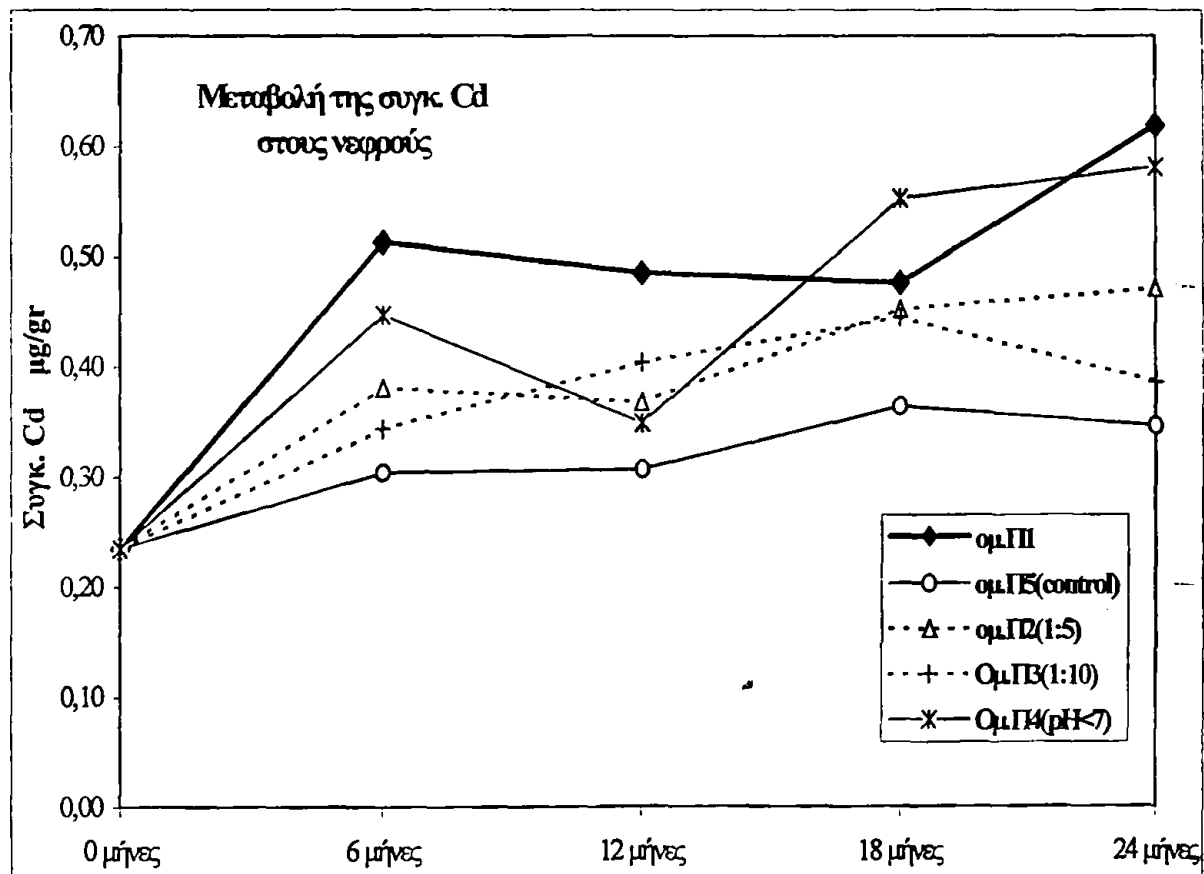
6.4.2 Ουρογεννητικό σύστημα

6.4.2.α Νεφρός

Τα αποτελέσματά μας (εικ. 26) δείχνουν ότι η συσσώρευση Cd έχει μικρή διακύμανση για τις ομάδες Π2(1:5) (από 0.235 $\mu\text{g/g}$ έως 0.471 $\mu\text{g/g}$), Π3(1:10) (από 0.235 $\mu\text{g/g}$ έως 0.386 $\mu\text{g/g}$) και Π5(ελέγχου) (από 0.235 $\mu\text{g/g}$ έως 0.381 $\mu\text{g/g}$), ενώ



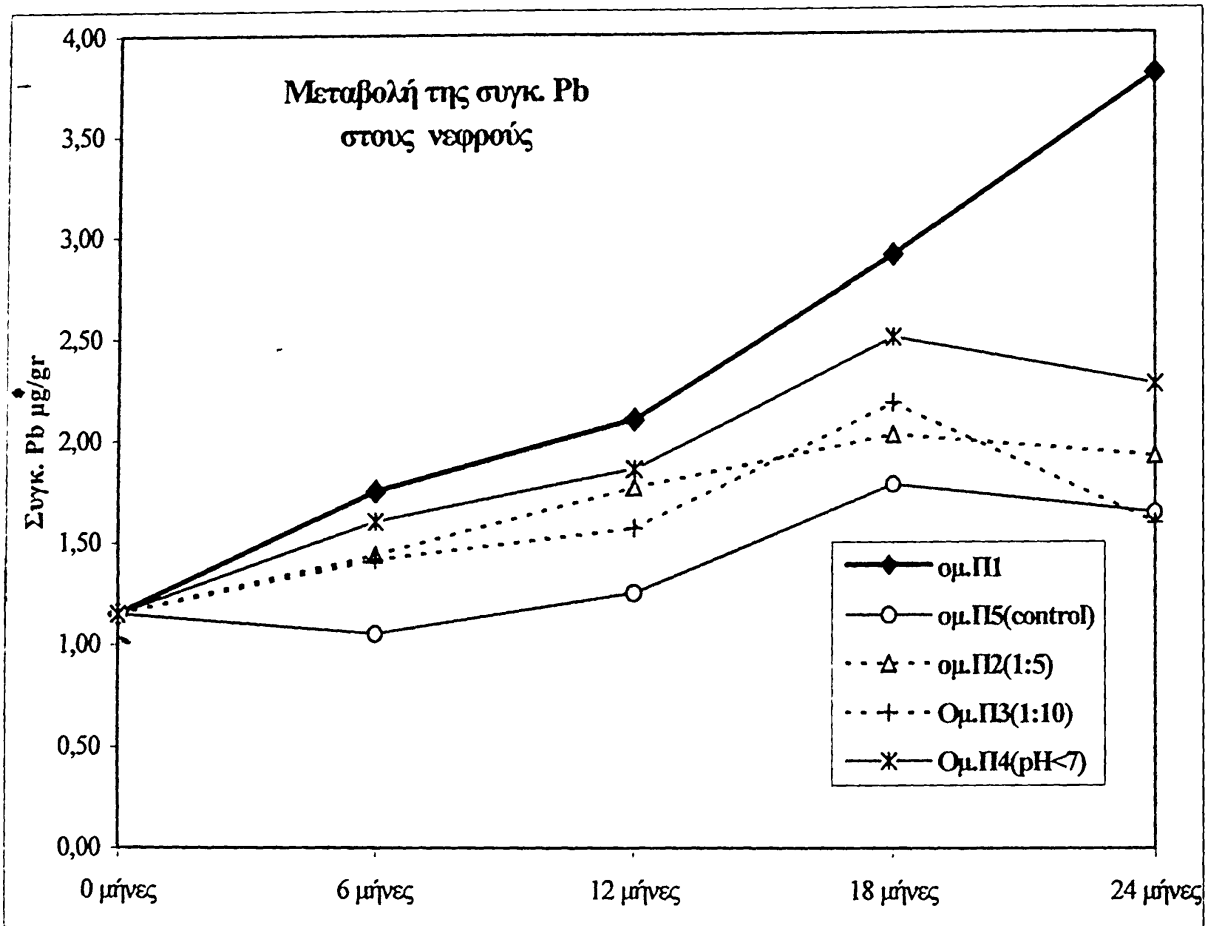
αντίθετα για τις ομάδες Π1(αυτούσιο) και Π4(pH:7.0) η συσσώρευση Cd είναι σε στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερα επίπεδα και έχει μεγαλύτερες διακυμάνσεις (από 0.235 $\mu\text{g/g}$ έως 0.619 $\mu\text{g/g}$) και (από 0.235 $\mu\text{g/g}$ έως 0.581 $\mu\text{g/g}$) αντίστοιχα. Ιδιαίτερα για την Π1 παρουσιάζεται μεγάλη αύξηση της συγκέντρωσης του Cd κατά την περίοδο 0 – 6 μήνες και 18 – 24 μήνες, ενώ για την ομάδα Π4 υψηλές συγκεντρώσεις Cd παρουσιάζονται για τις περιόδους 0 – 6 μήνες και 12 – 18 μήνες. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι η αύξηση αυτή είναι στατιστικά σημαντική ($p=0.008$) μεταξύ των ομάδων Π1 και Π5 στους 24 μήνες, όπως και την ίδια περίοδο μεταξύ των ομάδων Π4 και Π5 ($p=0.008$).



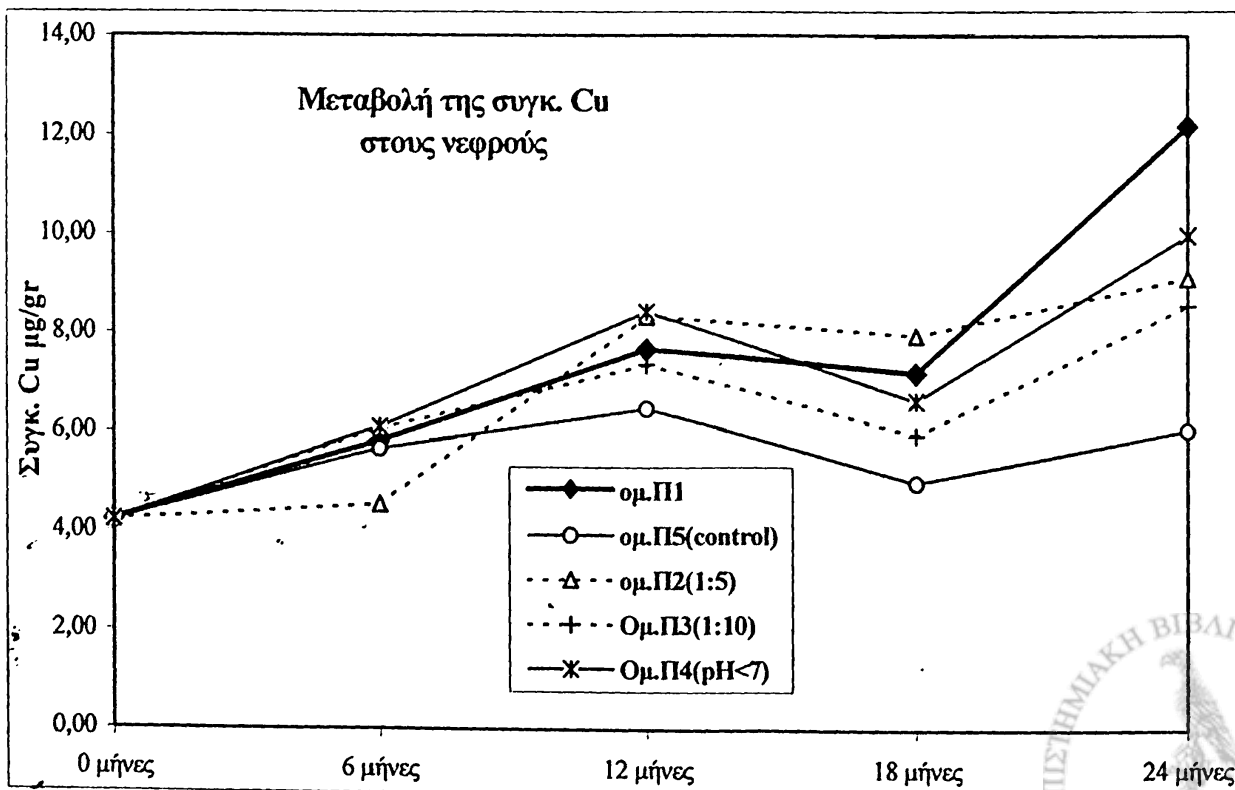
Εικ. 26: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cd στο νεφρικό ιστό

Ο Pb (εικ. 27) εμφανίζει μικρή συσσώρευση στην ομάδα Π5(ελέγχου) (από 1.152 $\mu\text{g/g}$ έως 1.772 $\mu\text{g/g}$) σε όλη τη διάρκεια του πειράματος, ενώ για τις ομάδες Π2(1:5) (από 1.152 $\mu\text{g/g}$ έως 1.92 $\mu\text{g/g}$) και Π3(1:10) (από 1.152 $\mu\text{g/g}$ έως 1.59 $\mu\text{g/g}$), φαίνεται να υπάρχει παρόμοια μεταβολή κατά τη διάρκεια της έκθεσης. Αυξημένη τάση συσσώρευσης εμφανίζεται για την ομάδα Π4(pH:7.0) (από 1.152 $\mu\text{g/g}$ έως 2.502 $\mu\text{g/g}$), ενώ τη μεγαλύτερη συσσώρευση Pb στους νεφρούς εμφανίζει η ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα)(από 1.152 $\mu\text{g/g}$ έως 3.8 $\mu\text{g/g}$) σε όλη τη διάρκεια του πειράματος με ιδιαίτερα σημαντική αύξηση την περίοδο από 12 – 24 μήνες. Στατιστικά σημαντική διαφορά

($p=0.016$) υπάρχει μεταξύ των ομάδων Π1 και Π5 στο τέλος της περιόδου των 24 μηνών.

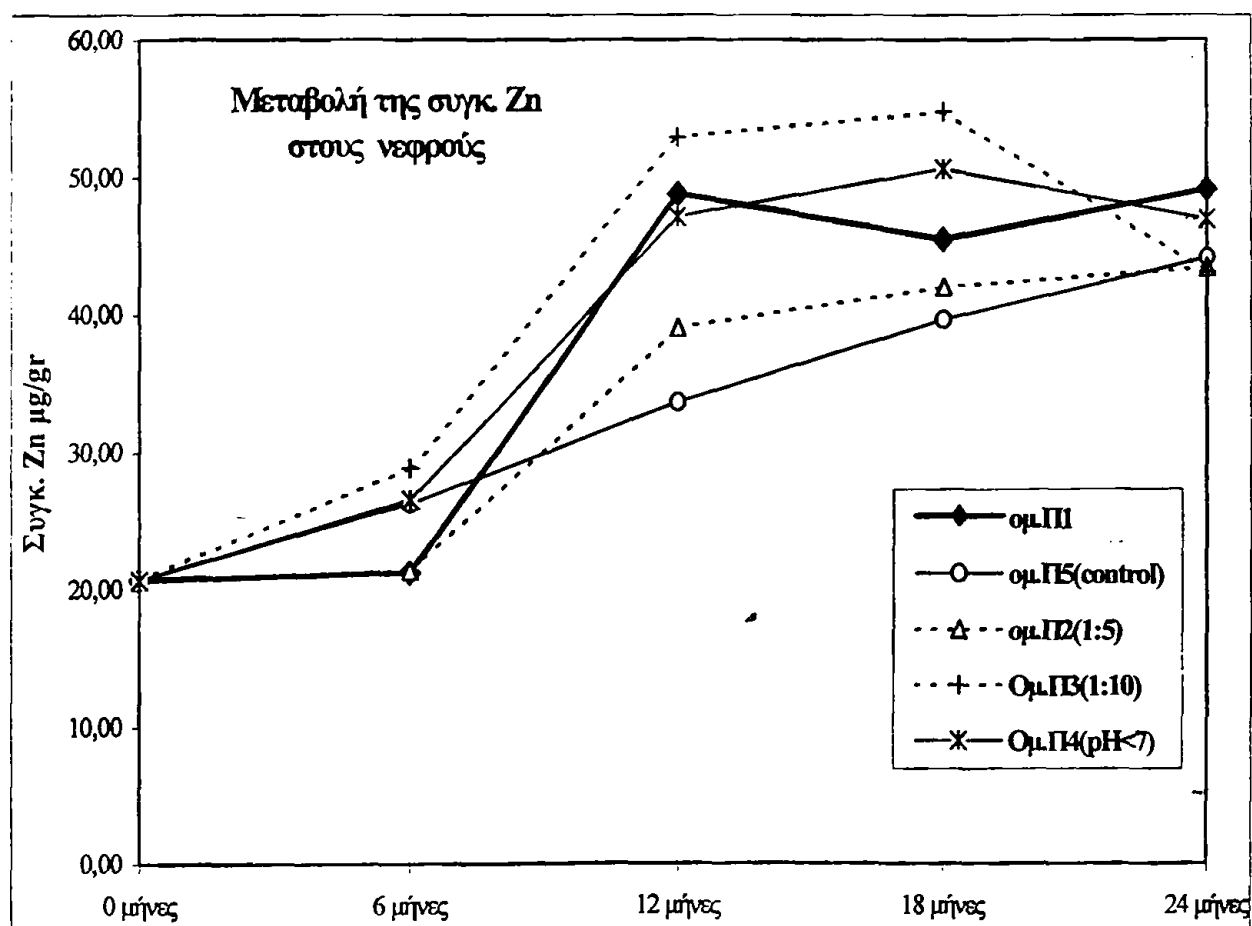


Εικ. 27: Μεταβολές της συγκέντρωσης Pb στο νεφρικό ιστό



Εικ. 28: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cu στο νεφρικό ιστό

Η εναπόθεση του Cu είναι σε παρόμοια επίπεδα για όλες τις ομάδες (εικ. 28) έως το 18^ο μήνα πειραματισμού, με τη μικρότερη συσσώρευση να εμφανίζεται για στις ομάδες Π5(ελέγχου) (από 4.231 $\mu\text{g/g}$ έως 6.062 $\mu\text{g/g}$), Π2(1:5) (από 4.231 $\mu\text{g/g}$ έως 9.121 $\mu\text{g/g}$) και Π3(1:10) (από 4.231 $\mu\text{g/g}$ έως 8.56 $\mu\text{g/g}$). Κατά το τελευταίο εξάμηνο έκθεσης παρατηρείται μεγάλη αύξηση της συσσώρευσης Cu στην ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) (από 4.231 $\mu\text{g/g}$ έως 12.178 $\mu\text{g/g}$) και στην Π4(pH:7.0) (από 4.231 $\mu\text{g/g}$ έως 9.976 $\mu\text{g/g}$). Επίσης την τελευταία περίοδο πειραματισμού (24 μήνες) υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.007$) μεταξύ των ομάδων Π1 - Π5 και Π4 - Π5 ($p=0.002$).



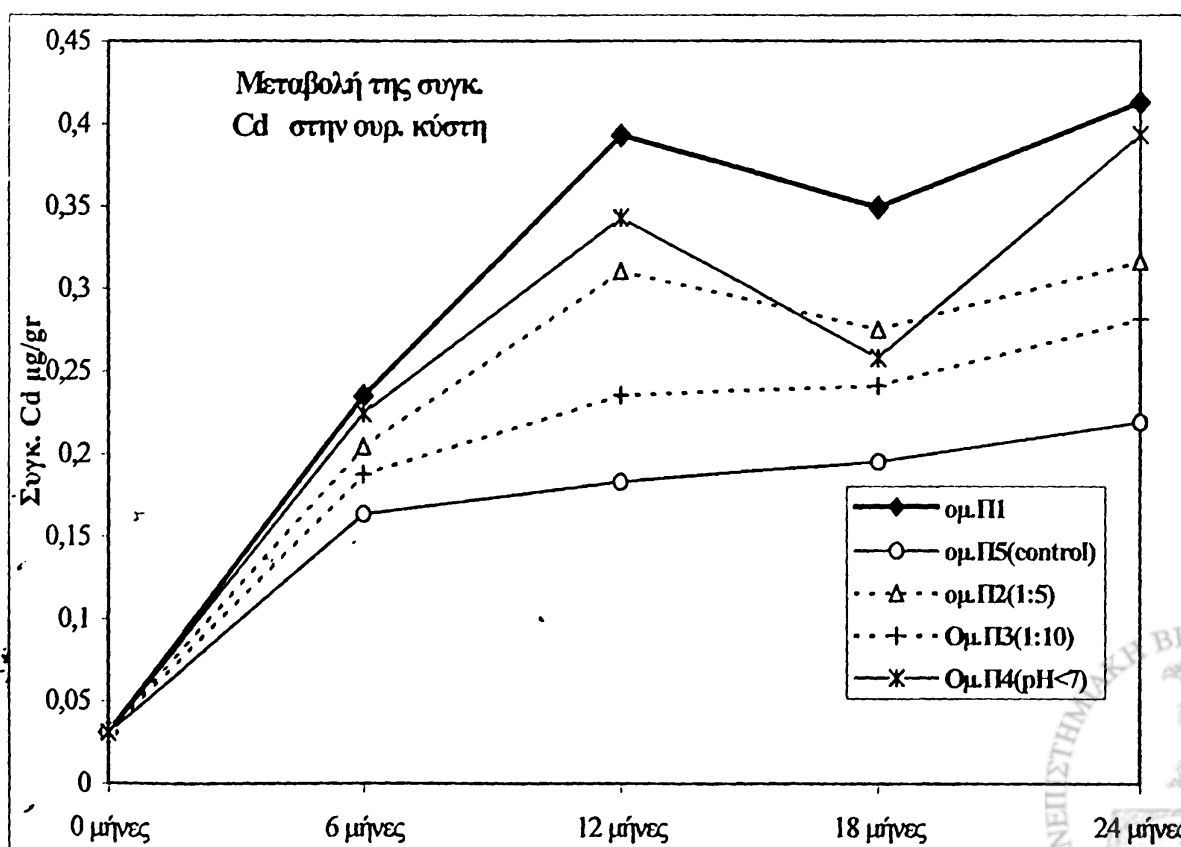
Εικ. 29: Μεταβολές της συγκέντρωσης Zn στο νεφρικό ιστό

Η μεταβολή της συγκέντρωσης Zn (εικ. 29) είναι σχεδόν παρόμοια για όλες τις ομάδες κατά την διάρκεια τη πειραματικής περιόδου: Π1(αυτούσιο λύμα) (από 20.68 $\mu\text{g/g}$ έως 49.14 $\mu\text{g/g}$), Π4(pH:7.0) (από 20.68 $\mu\text{g/g}$ έως 50.65 $\mu\text{g/g}$) και Π2(1:5) (από 20.68 $\mu\text{g/g}$ έως 54.82 $\mu\text{g/g}$). Για τις άλλες ομάδες παρουσιάζεται σε χαμηλότερα επίπεδα Π3(1:10) (από 20.68 $\mu\text{g/g}$ έως 43.091 $\mu\text{g/g}$) και Π5(ελέγχου) (από 20.68 $\mu\text{g/g}$ έως 44.15 $\mu\text{g/g}$).

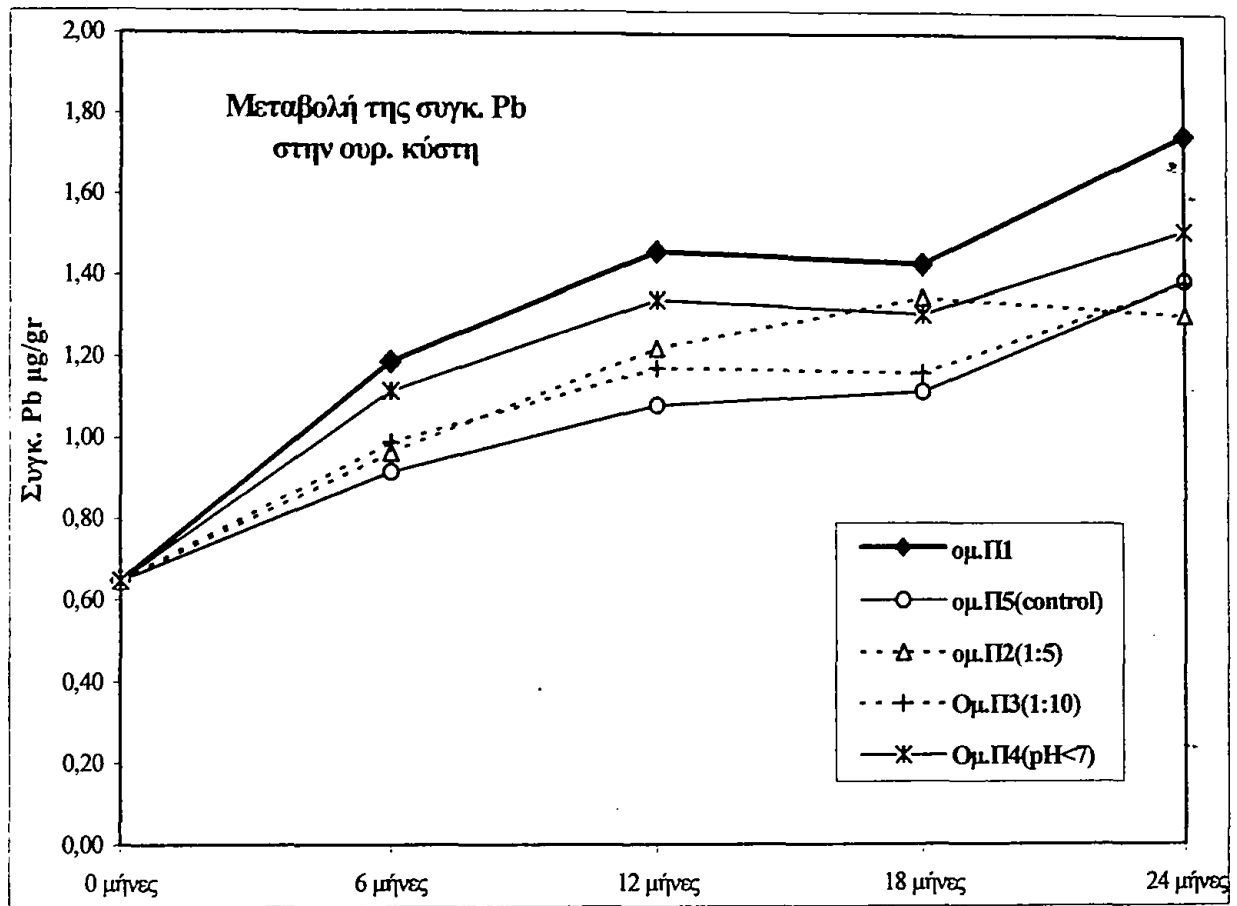
6.4.2.β Ουροδόχος κύστη

Η συσσώρευση Cd (εικ. 30) εμφανίζεται χαμηλή στην ομάδα Π5(ελέγχου) (από 0.031 $\mu\text{g/g}$ έως 0.2197 $\mu\text{g/g}$), ενώ στις ομάδες Π2(1:5) και Π3(1:10) η συσσώρευση βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα (από 0.031 $\mu\text{g/g}$ έως 0.317 $\mu\text{g/g}$) και (από 0.031 $\mu\text{g/g}$ έως 0.2821 $\mu\text{g/g}$) αντίστοιχα. Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις Cd παρουσιάστηκαν στις ομάδες Π4(pH:7.0) (από 0.031 $\mu\text{g/g}$ έως 0.3937 $\mu\text{g/g}$) και ιδίως στην Π1(αυτούσιο λύμα) (από 0.031 $\mu\text{g/g}$ έως 0.413 $\mu\text{g/g}$). Επίσης, παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.002$) μεταξύ των ομάδων Π1 - Π5 καθώς και μεταξύ των ομάδων Π4 - Π5 ($p=0.029$) κατά την τελική φάση των 24 μηνών.

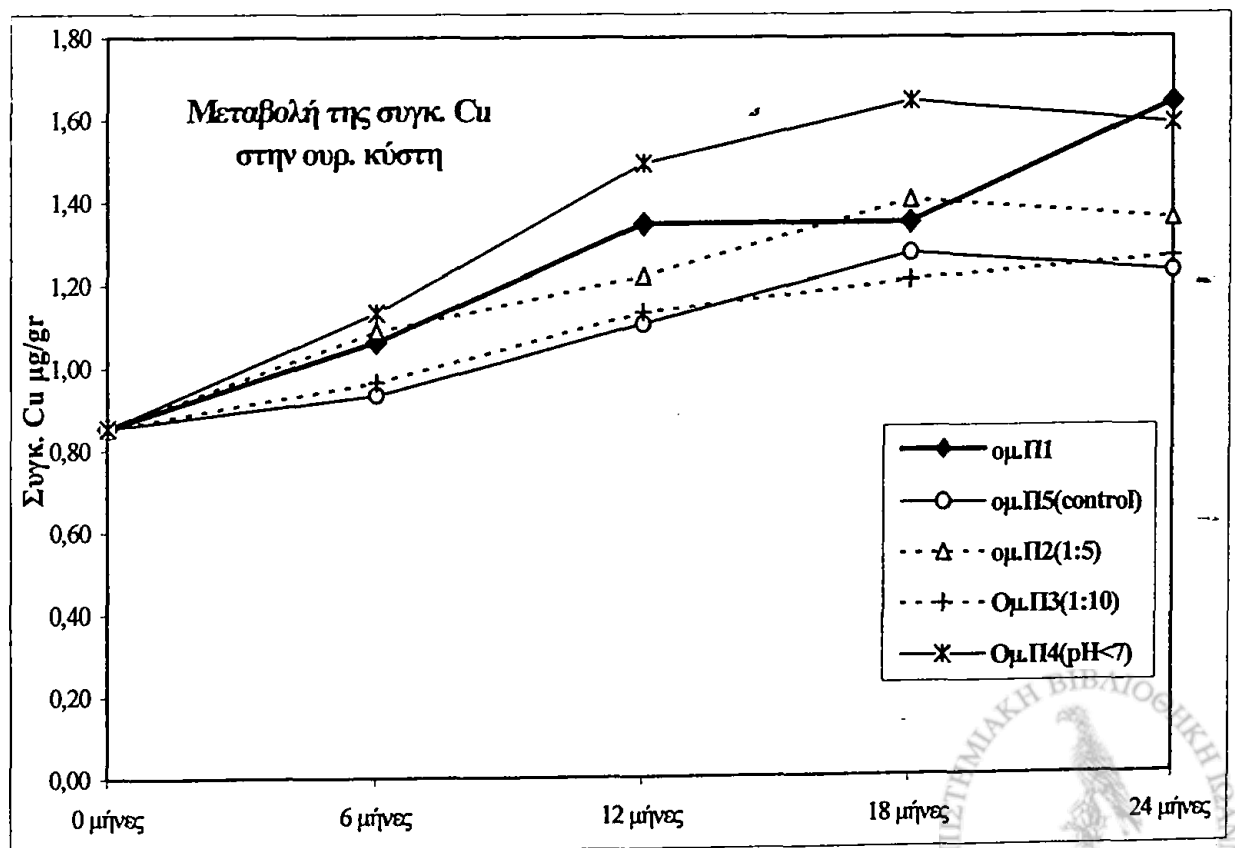
Τη μεγαλύτερη συσσώρευση Pb (εικ. 31) παρουσίασε η ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) (από 0.648 $\mu\text{g/g}$ έως 1.751 $\mu\text{g/g}$) σε όλη τη διάρκεια του πειράματος, αλλά και η ομάδα Π4(pH:7.0) (από 0.648 $\mu\text{g/g}$ έως 1.514 $\mu\text{g/g}$) έδειξε αρκετή αύξηση στη συσσώρευση, ενώ οι ομάδες Π2(1:5) (από 0.648 $\mu\text{g/g}$ έως 1.307 $\mu\text{g/g}$) και Π3(1:10) (από 0.648 $\mu\text{g/g}$ έως 1.386 $\mu\text{g/g}$) έδειξαν πολύ μικρή αύξηση της συσσώρευσης. Η ομάδα Π5(ελέγχου) (από 0.648 $\mu\text{g/g}$ έως 1.391 $\mu\text{g/g}$) παρουσίασε τη μικρότερη συσσώρευση ενώ κατά τον 24^ο μήνα έκθεσης είχε την ίδια περίπου συγκέντρωση Pb με αυτή των ομάδων Π2(1:5) και Π3(1:10). Δεν φαίνεται να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p>0.05$) μεταξύ όλων των ομάδων για όλες τις πειραματικές περιόδους.



Εικ. 30: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cd στην ουροδόχο κύστη

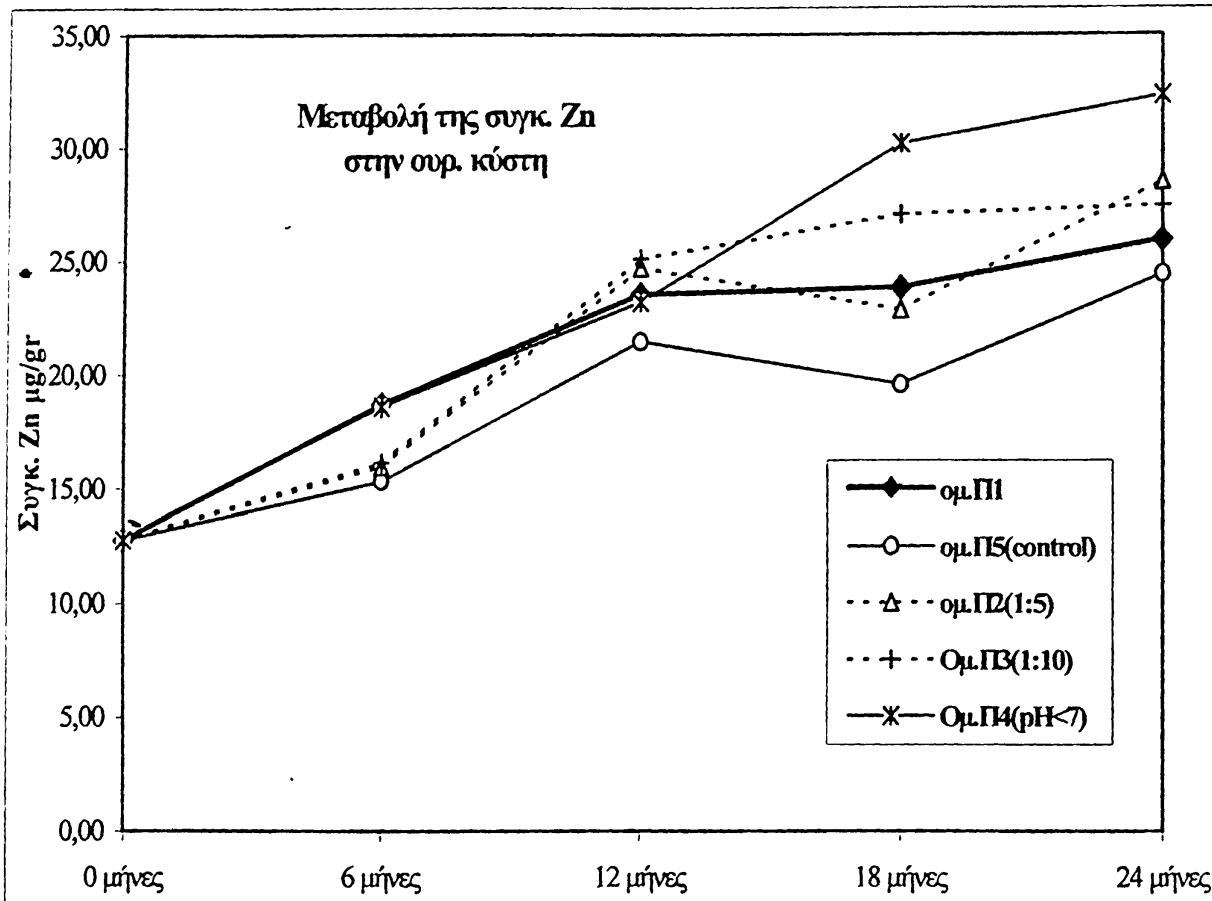


Εικ. 31: Μεταβολές της συγκέντρωσης Pb στην ουροδόχο κύστη.



Εικ. 32: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cu στην ουροδόχο κύστη

Η συγκέντρωση του Cu στην ουροδόχο κύστη (εικ. 32) δείχνει ότι υπάρχει μικρή εναπόθεση στις ομάδες Π5(ελέγχου) (από 0.854 $\mu\text{g/g}$ έως 1.273 $\mu\text{g/g}$), Π2(1:5) (από 0.854 $\mu\text{g/g}$ έως 1.404 $\mu\text{g/g}$) και την Π3(1:10) (από 0.854 $\mu\text{g/g}$ έως 1.262 $\mu\text{g/g}$). Μεγαλύτερη αποθήκευση Cu παρουσιάζουν οι ομάδες Π1(αυτούσιο λύμα) (από 0.854 $\mu\text{g/g}$ έως 1.64 $\mu\text{g/g}$) και Π4(pH:7.0) (από 0.854 $\mu\text{g/g}$ έως 1.6441 $\mu\text{g/g}$).

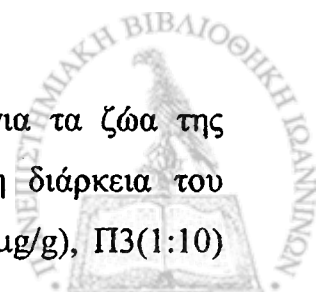


Εικ. 33: Μεταβολές της συγκέντρωσης Zn στην ουροδόχο κύστη

Η εναπόθεση Zn στην ουροδόχο κύστη όπως φαίνεται στην εικ. 33 είναι παραπλήσια για τις ομάδες Π5(ελέγχου) (από 12.78 $\mu\text{g/g}$ έως 24.42 $\mu\text{g/g}$), Π2(1:5) (από 12.78 $\mu\text{g/g}$ έως 28.52 $\mu\text{g/g}$) και Π3(1:10) (από 12.78 $\mu\text{g/g}$ έως 27.45 $\mu\text{g/g}$). Σημαντική εναπόθεση Zn φαίνεται να συμβαίνει κυρίως στις ομάδες Π1(αυτούσιο λύμα) (από 12.78 $\mu\text{g/g}$ έως 25.94 $\mu\text{g/g}$) και Π4(pH:7.0) (από 12.78 $\mu\text{g/g}$ έως 32.32 $\mu\text{g/g}$) κατά τη διάρκεια του τελευταίου εξαμήνου έκθεσης των ζώων στο λύμα.

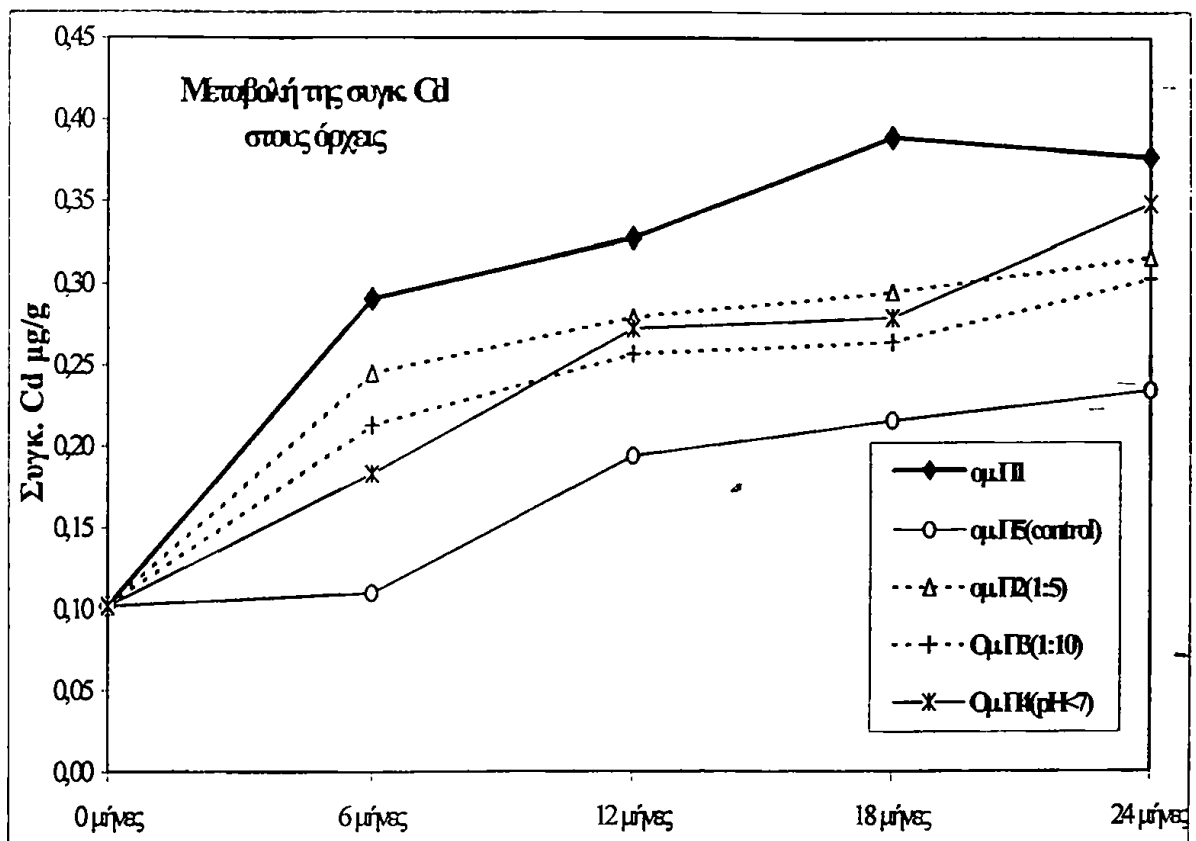
6.4.2.γ Όρχεις

Παρατηρείται ότι η συσσώρευση Cd (εικ. 34) είναι μικρή για τα ζώα της ομάδας Π5(ελέγχου) (από 0.102 $\mu\text{g/g}$ έως 0.234 $\mu\text{g/g}$) καθόλη τη διάρκεια του πειράματος, ενώ για τις ομάδες Π2(1:5) (από 0.102 $\mu\text{g/g}$ έως 0.316 $\mu\text{g/g}$), Π3(1:10)



(από 0.102 $\mu\text{g/g}$ έως 0.303 $\mu\text{g/g}$) και Π4(pH:7.0) (από 0.102 $\mu\text{g/g}$ έως 0.348 $\mu\text{g/g}$), η συσσώρευση Cd ακολούθησε παρόμοια συμπεριφορά στη διάρκεια του πειράματος. Το Cd εμφανίζεται ιδιαίτερα αυξημένο στην ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) (από 0.102 $\mu\text{g/g}$ έως 0.389 $\mu\text{g/g}$) και φαίνεται να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά τόσο καθόλη την περίοδο έκθεσης όσο και κατά τον 24ο μήνα μεταξύ των ομάδων Π1- Π5 ($p=0.027$), ενώ δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων Π2 - Π5 ($p=0.1187$), Π3 - Π5 ($p=0.294$), και Π4 - Π5 ($p=0.119$). Οι στατιστικές διαφορές των ομάδων Π2, Π3 και Π4 με την ομάδα control Π5 σε όλη τη διάρκεια του πειράματος (0 μήνες, 6 μήνες, 12 μήνες, 18 μήνες και 24 μήνες), δεν φαίνεται να είναι σημαντικές ($p>0.05$).

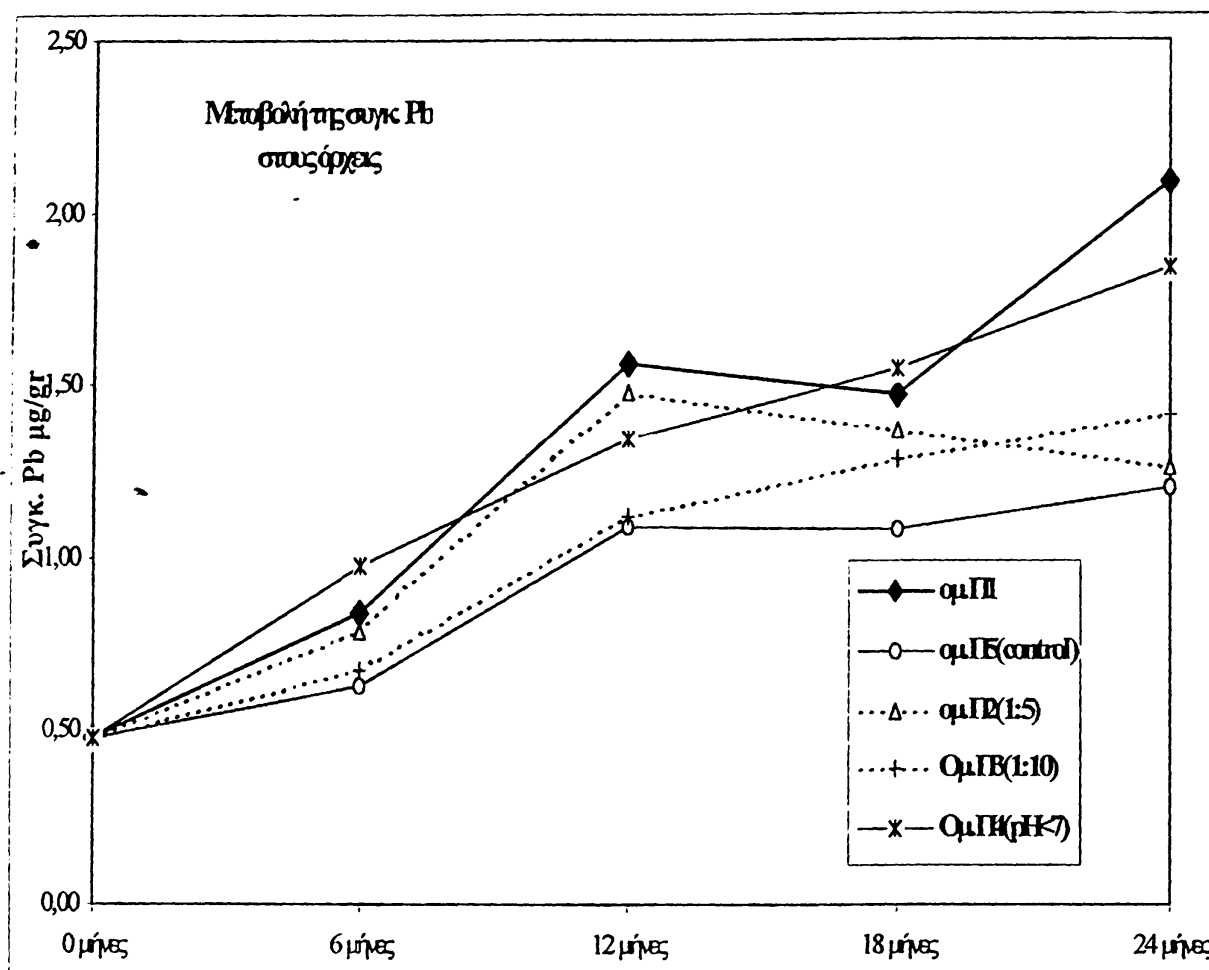
Ο μεγαλύτερος ρυθμός συσσώρευσης για το Cd εμφανίζεται στην ομάδα Π1 και ιδιαίτερα την περίοδο από 0 – 6 μήνες.



Εικ. 34: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cd στους όρχεις

Η συμπεριφορά των ομάδων απέναντι στο Pb φαίνεται στο διάγραμμα 35. Η συσσώρευση Pb στους όρχεις είναι μικρή για την ομάδα Π5 (ελέγχου) (από 0.482 $\mu\text{g/g}$ έως 1.204 $\mu\text{g/g}$) ενώ για τις ομάδες Π2(1:5) (από 0.482 $\mu\text{g/g}$ έως 1.482 $\mu\text{g/g}$) και Π3(1:10) (από 0.482 $\mu\text{g/g}$ έως 1.412 $\mu\text{g/g}$) υπάρχει μεγαλύτερη αύξηση της συσσώρευσης Pb ιδιαίτερα για την περίοδο 6 - 12 μήνες, ενώ για τις επόμενες περιόδους υπάρχει μείωση. Η ομάδα Π4(pH:7.0) (από 0.482 $\mu\text{g/g}$ έως 1.836 $\mu\text{g/g}$)

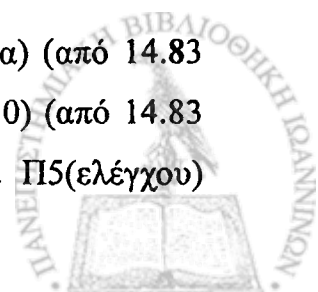
δείχνει σταθερή συσσώρευση σε όλες τις πειραματικές περιόδους, ενώ τη μεγαλύτερη συσσώρευση παρουσιάζει η ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) (από 0.482 $\mu\text{g/g}$ έως 2.085 $\mu\text{g/g}$). Υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στο τέλος της περιόδου των 24 μηνών μεταξύ των ομάδων Π1 – Π5 ($p=0.005$) καθώς και μεταξύ των ομάδων Π4 – Π5 ($p=0.008$).

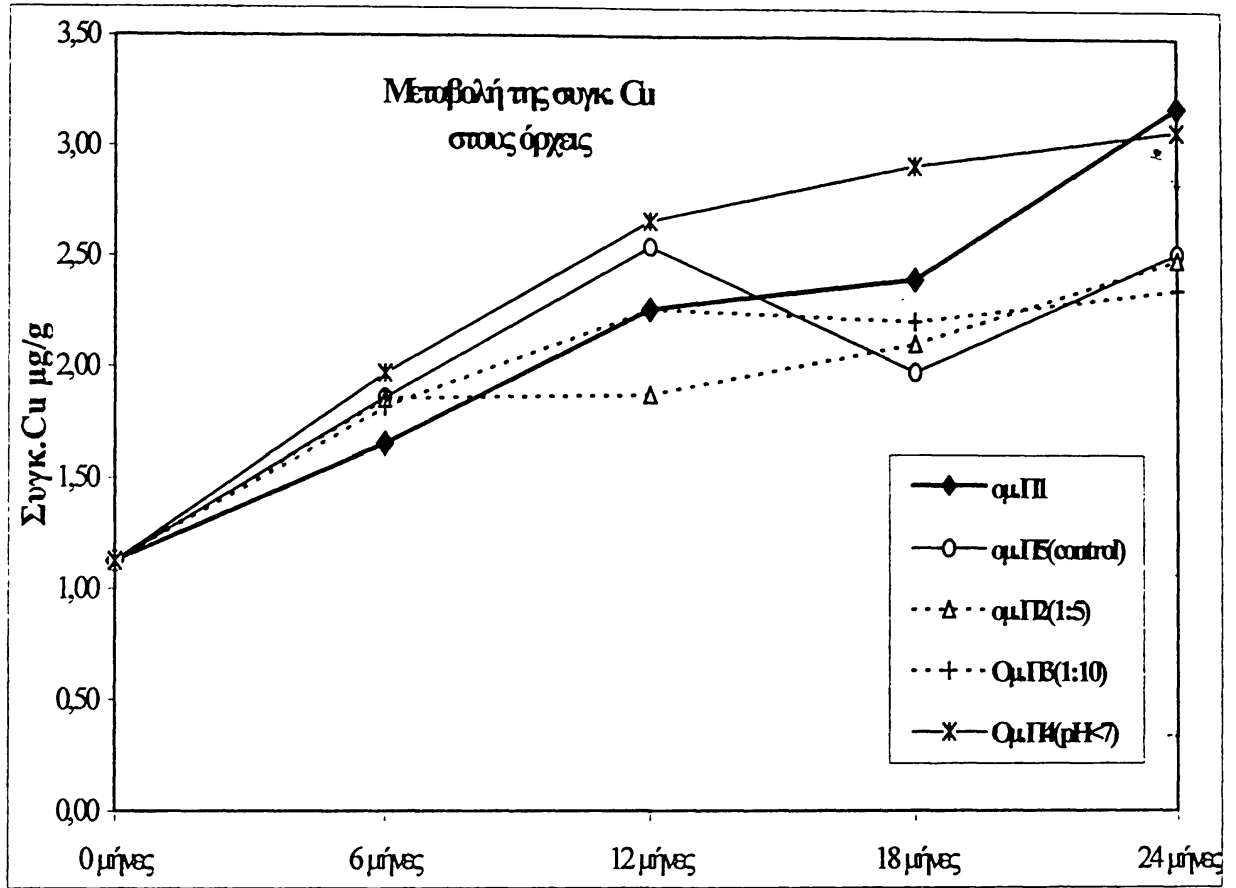


Εικ. 35: Μεταβολές της συγκέντρωσης Pb στους όρχεις

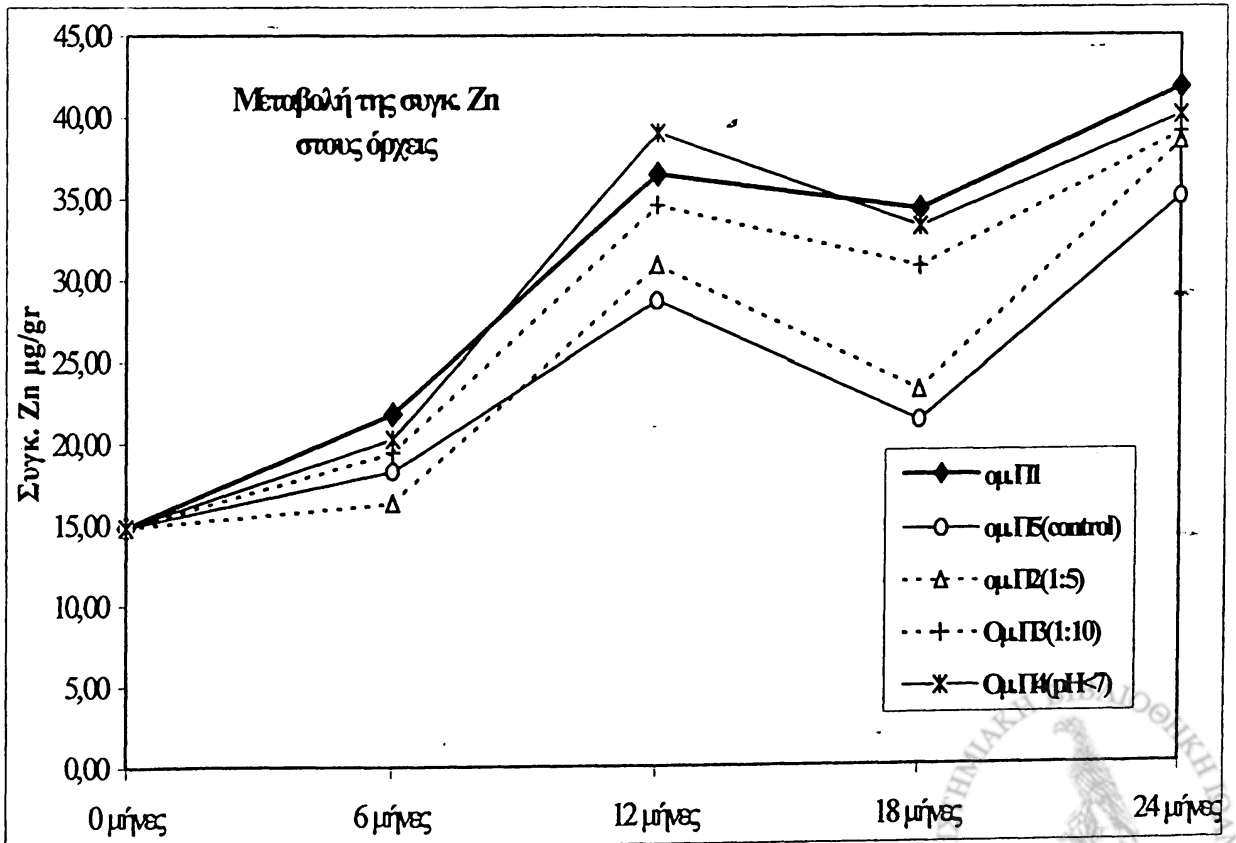
Τα αποτελέσματά μας (εικ. 36) δείχνουν ότι η συσσώρευση Cu στους όρχεις είναι υψηλή για την ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) (από 1.124 $\mu\text{g/g}$ έως 3.184 $\mu\text{g/g}$) και υψηλότερη για την Π4(pH: 7.0) (από 1.124 $\mu\text{g/g}$ έως 3.075 $\mu\text{g/g}$) σχεδόν σε όλη τη χρονική περίοδο του πειράματος. Η συσσώρευση Cu για τις υπόλοιπες ομάδες κυμαίνεται ως εξής: Π2(1:5) (από 1.124 $\mu\text{g/g}$ έως 2.4913 $\mu\text{g/g}$), Π3(1:10) (από 1.124 $\mu\text{g/g}$ έως 2.355 $\mu\text{g/g}$) και Π5(ελέγχου) (από 1.124 $\mu\text{g/g}$ έως 2.544 $\mu\text{g/g}$).

Η συσσώρευση Zn (εικ. 37) είναι ανά ομάδα: Π1(αυτούσιο λύμα) (από 14.83 $\mu\text{g/g}$ έως 41.79 $\mu\text{g/g}$), Π2(1:5) (από 14.83 $\mu\text{g/g}$ έως 38.46 $\mu\text{g/g}$), Π3(1:10) (από 14.83 $\mu\text{g/g}$ έως 39.00 $\mu\text{g/g}$), Π4(pH: 7.0) (από 14.83 $\mu\text{g/g}$ έως 40.084 $\mu\text{g/g}$) και Π5(ελέγχου) (από 14.83 $\mu\text{g/g}$ έως 35.00 $\mu\text{g/g}$).





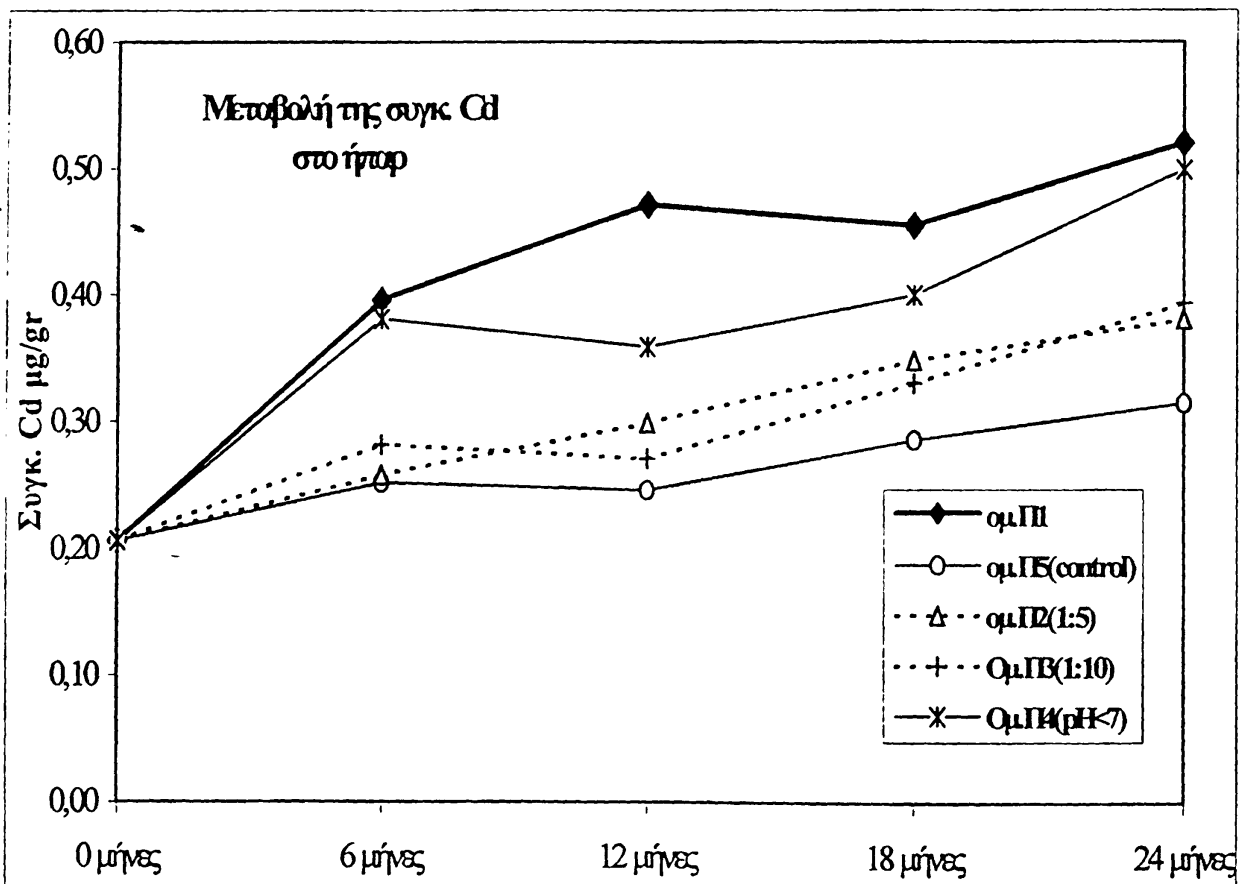
Εικ. 36: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cu στους όρχεις



Εικ. 37: Μεταβολή της συγκέντρωσης Zn στους όρχεις

6.4.3 Ήπαρ

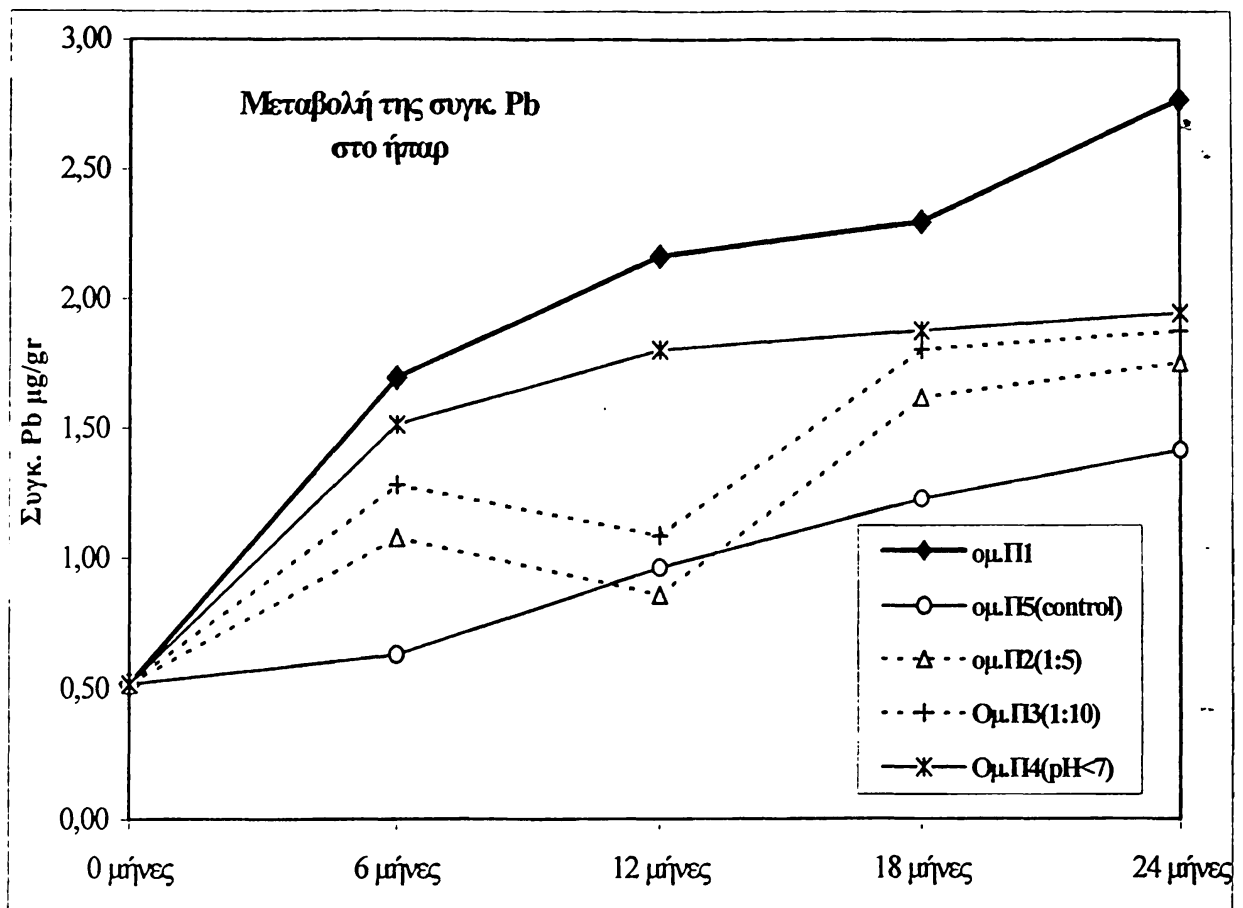
Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 38) φαίνεται ότι η συσσώρευση Cd είναι μικρή για όλη την πειραματική περίοδο για τις ομάδες Π5(ελέγχου) (από 0.206 μg/g έως 0.315 μg/g), Π2(1:5) (από 0.206 μg/g έως 0.381 μg/g) και Π3(1:10) (από 0.206 μg/g έως 0.394 μg/g), ενώ για τις άλλες ομάδες η συσσώρευση Cd είναι σε σημαντικά μεγαλύτερα επίπεδα, για την Π4(pH:7.0) (από 0.206 μg/g έως 0.499 μg/g) και για την Π1(αυτούσιο λύμα) (από 0.206 μg/g έως 0.52 μg/g). Η διαφορά στη συγκέντρωση του Cd για την Π1 και την Π5 στους 24 μήνες είναι στατιστικά σημαντική ($p=0.017$), όπως επίσης και μεταξύ των ομάδων Π4 και Π5 ($p=0.022$).



Εικ. 38: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cd στο ήπαρ

Όσον αφορά το Pb (εικ. 39) τη μικρότερη συσσώρευση εμφανίζει η ομάδα Π5(ελέγχου) (από 0.516 μg/g έως 1.415 μg/g) καθόλη τη διάρκεια του πειράματος, ενώ αντίστοιχα μικρή συσσώρευση εμφανίζουν οι ομάδες Π2(1:5) (από 0.516 μg/g έως 1.753 μg/g) και Π3(1:10) (από 0.516 μg/g έως 1.874 μg/g). Αυξημένη συσσώρευση Pb εμφανίζεται στην ομάδα Π4(pH:7.0) (από 0.516 μg/g έως 1.944 μg/g) ενώ την μεγαλύτερη τάση συσσώρευσης σε όλη τη διάρκεια της πειραματικής έκθεσης εμφανίζει η ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) (από 0.516 μg/g έως 2.771 μg/g). Επίσης οι

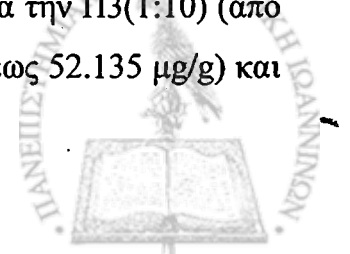
συγκεντρώσεις του Pb μετά από 24 μήνες πειραματισμού, παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων Π1 και Π5 ($p=0.004$).

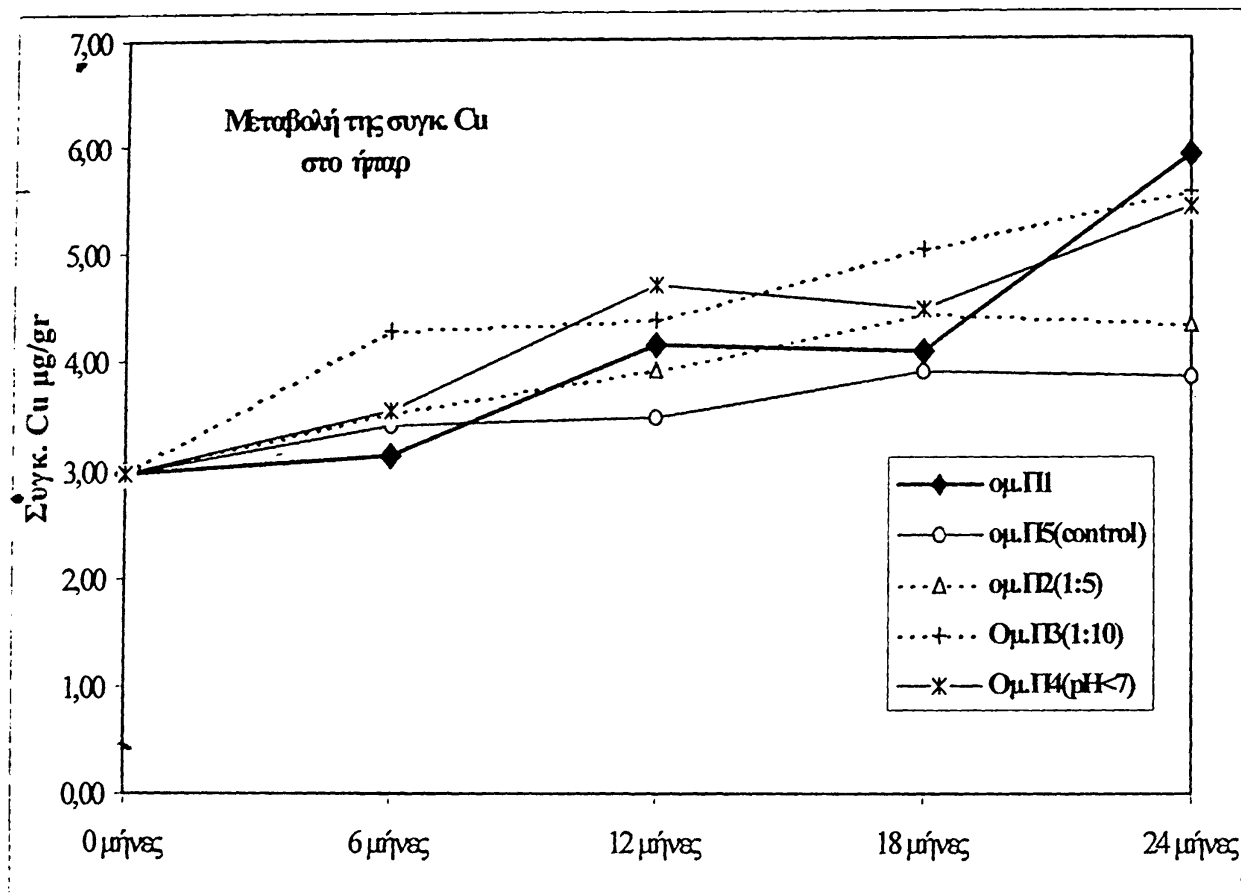


Εικ. 39: Μεταβολές της συγκέντρωσης Pb στο ήπαρ

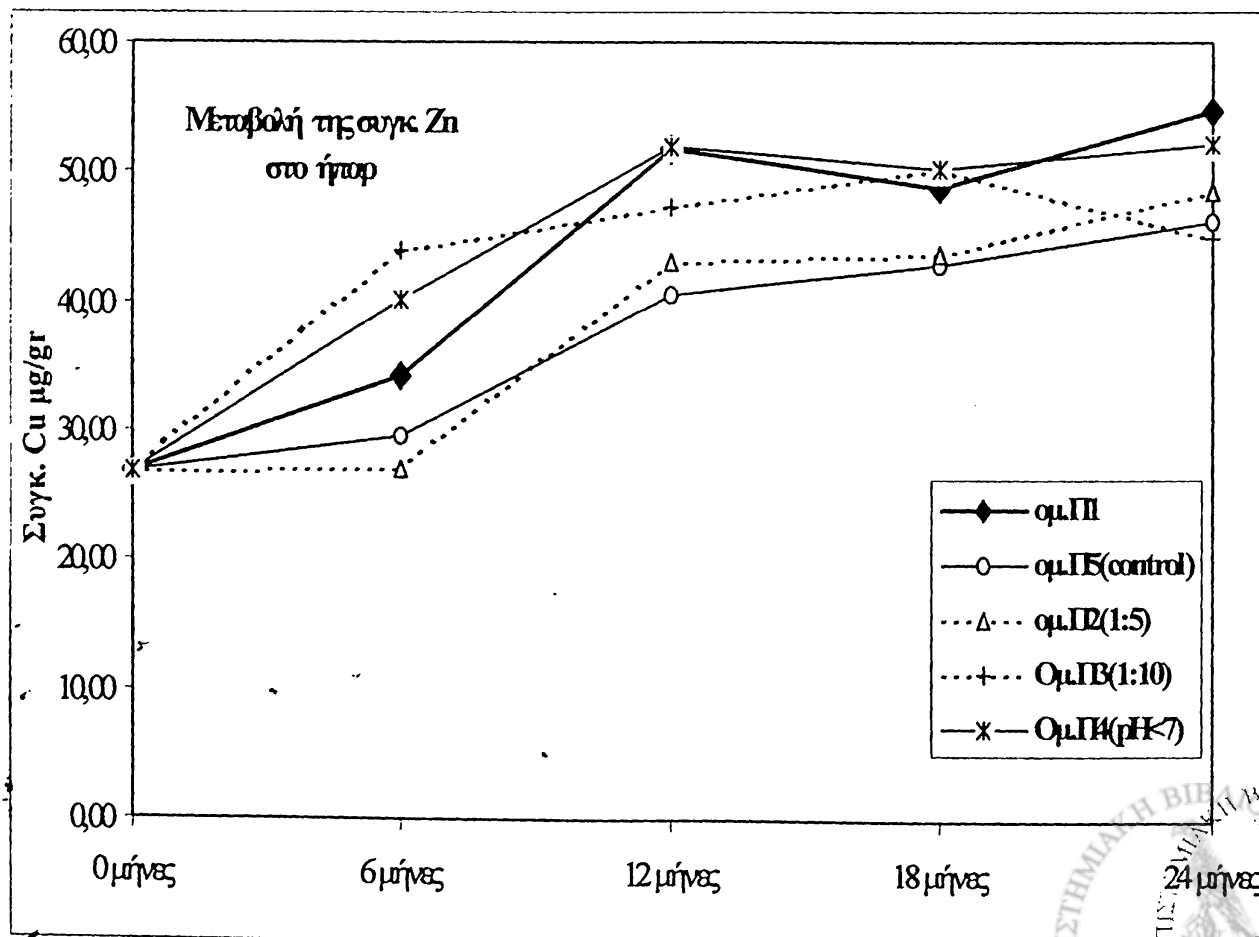
Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 40) φαίνεται ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στη συσσώρευση Cu στο ήπαρ μεταξύ των ομάδων καθόλη τη διάρκεια του πειράματος. Στο τέλος της πειραματικής περιόδου, η συσσώρευση για την ομάδα Π5(ελέγχου) είναι αρκετά μικρή (από 2.96 μg/g έως 3.846 μg/g), ενώ παρουσιάζεται σε μεγαλύτερα επίπεδα για την Π2(1:5) (από 2.96 μg/g έως 4.334 μg/g), την Π3(1:10) (από 2.96 μg/g έως 5.562 μg/g), την Π4(pH:7.0) (από 2.96 μg/g έως 5.421 μg/g) και την Π1(αυτούσιο λύμα) (από 2.96 μg/g έως 5.903 μg/g). Η ομάδα Π1 παρουσίασε μεγαλύτερο ρυθμό συσσώρευσης την τελευταία περίοδο έκθεσης (18 – 24 μήνες).

Οι συγκεντρώσεις του ψευδαργύρου (Zn) (εικ. 41) δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές μεταβολές στο ήπαρ των ομάδων σε όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας. Η συσσώρευση για την Π1(αυτούσιο λύμα) είναι (από 26.83 μg/g έως 54.646 μg/g), για την Π2(1:5) (από 26.83 μg/g έως 48.613 μg/g), για την Π3(1:10) (από 26.83 μg/g έως 45.013 μg/g), για την Π4(pH:7.0) (από 26.83 μg/g έως 52.135 μg/g) και για την ομάδα Π5(ελέγχου) (από 26.83 μg/g έως 46.3 μg/g).





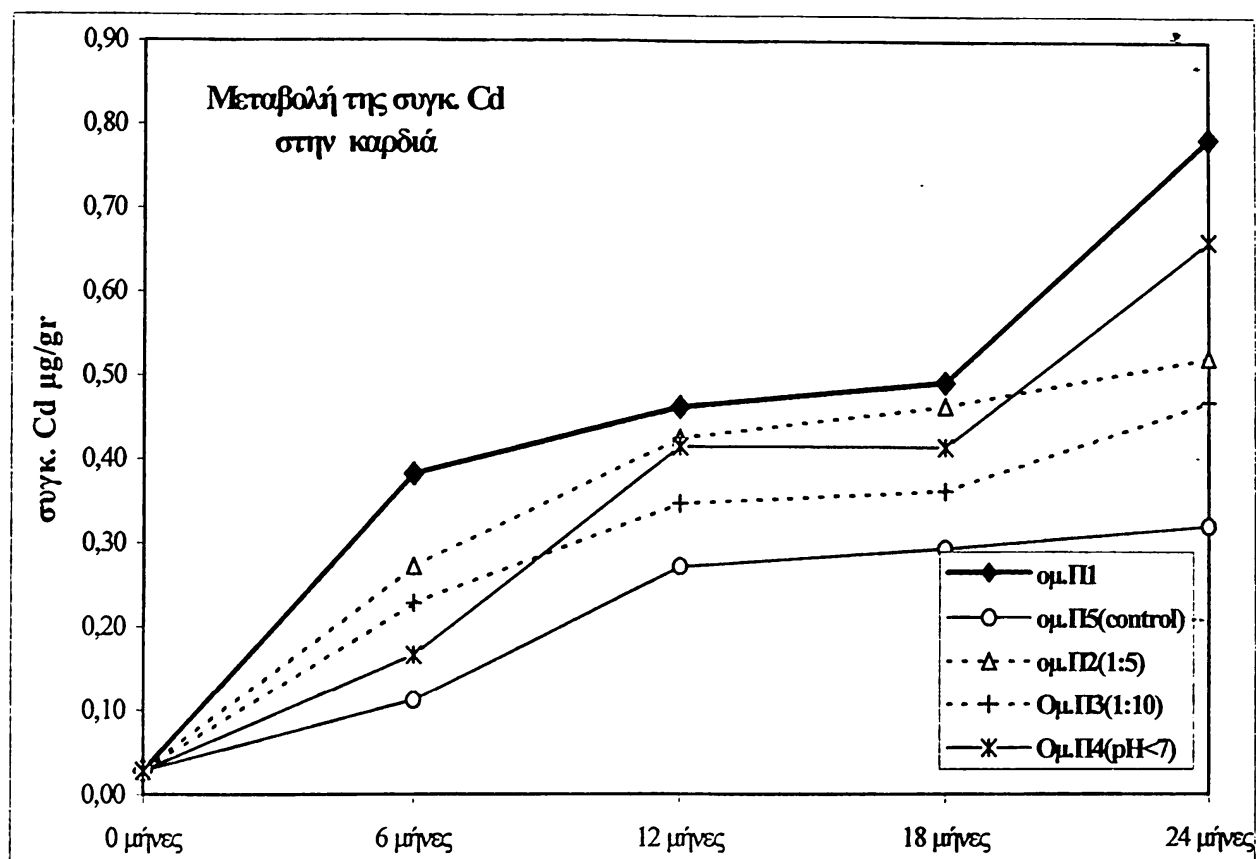
Εικ. 40: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cu στο ήπαρ



Εικ. 41: Μεταβολές της συγκέντρωσης Zn στο ήπαρ

6.4.4 Καρδιά

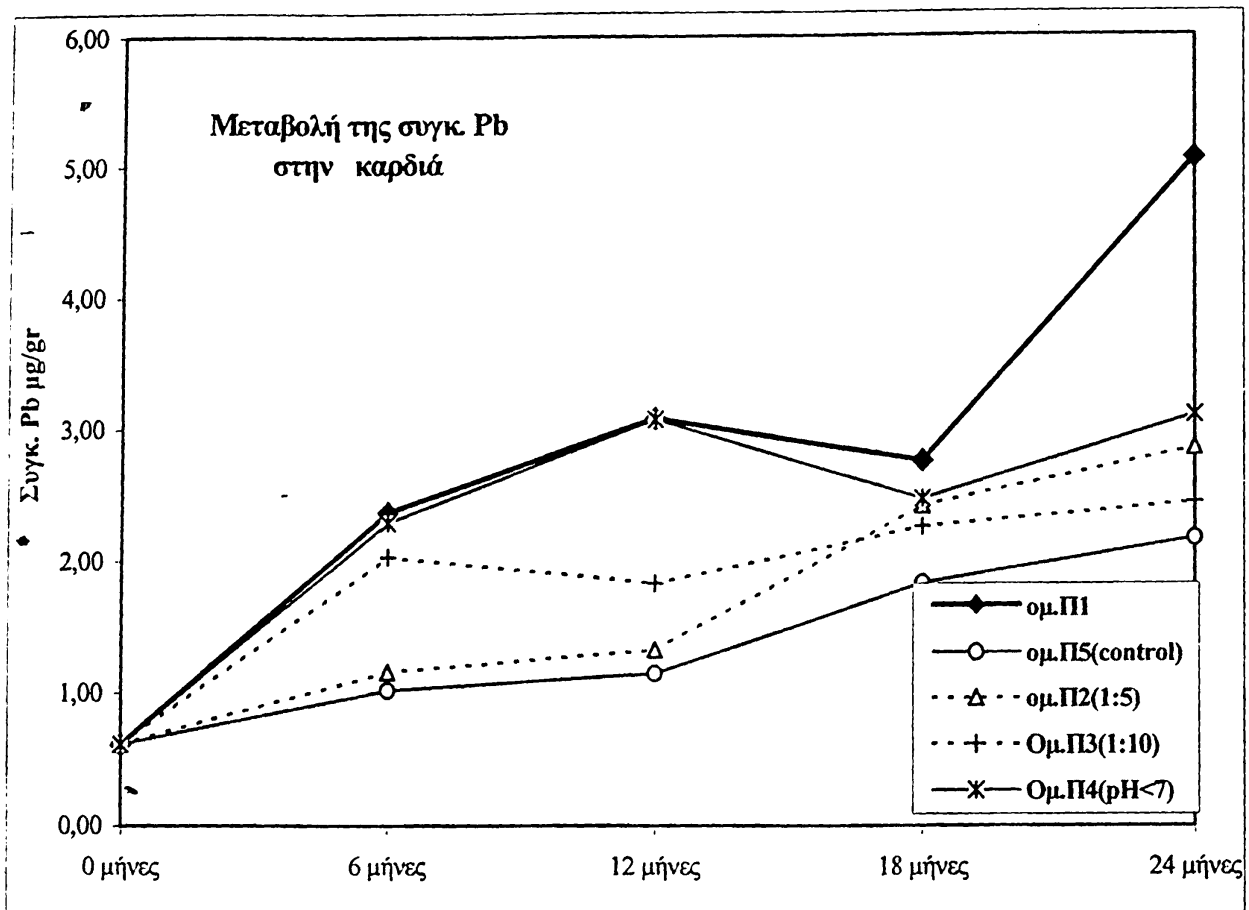
Οι μεταβολές των συγκεντρώσεων Cd και Pb στον καρδιακό ιστό φαίνονται στα παρακάτω διαγράμματα 42, 43.



Εικ. 42: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cd στην καρδιά

Από τα αποτελέσματά μας φαίνεται ότι οι συγκεντρώσεις Cd (εικ. 42) διατηρήθηκαν σε σχετικά χαμηλά επίπεδα για την ομάδα Π5(ελέγχου) (από 0.028 μg/g έως 0.319 μg/g) την ομάδα Π2(1:5) (από 0.028 μg/g έως 0.521 μg/g) και την Π3(1:10) (από 0.028 μg/g έως 0.468 μg/g). Για την ομάδα Π4(pH:7.0) (από 0.028 μg/g έως 0.66 μg/g) παρατηρήθηκε σχετικά μικρή συσσώρευση έως τον 18^ο μήνα πειραματισμού ενώ το τελευταίο εξάμηνο έκθεσης υπήρχε σημαντική άνοδο. Τη μεγαλύτερη συσσώρευση Cd παρουσίασαν οι καρδιές των ζώων της ομάδας Π1(αυτούσιο λύμα) (από 0.028 μg/g έως 0.783 μg/g) καθόλη τη διάρκεια του πειράματος. Ιδιαίτερα στο τέλος των 24 μηνών υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στις τιμές Cd μεταξύ των ομάδων Π1- Π5 ($p=0.016$) και Π4 - Π5 ($p=0.033$).



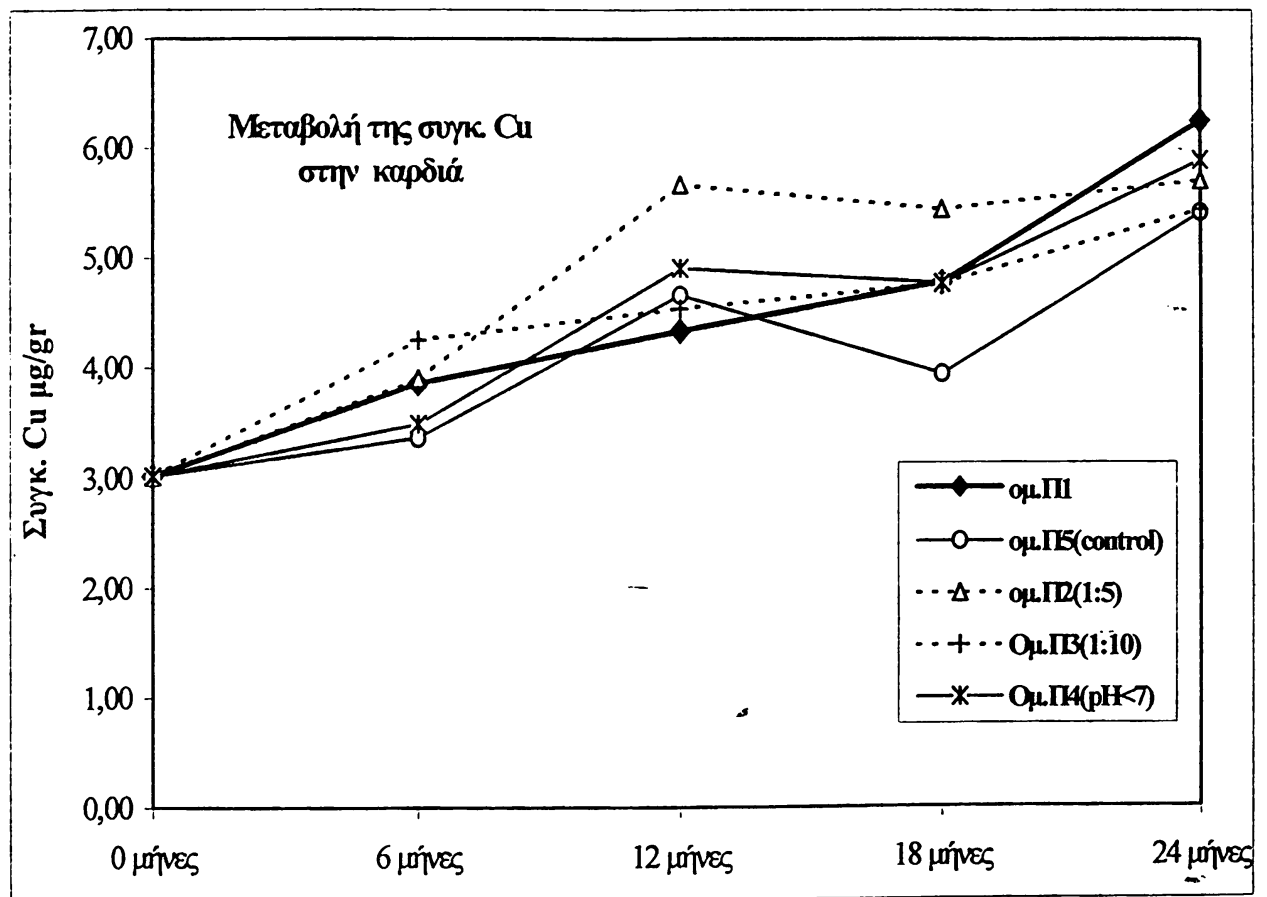


Εικ. 43: Μεταβολές της συγκέντρωσης Pb στην καρδιά

Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας (εικ. 43) παρατηρούμε ότι τη μικρότερη συσσώρευση Pb στην καρδιά εμφάνισαν οι ομάδες Π5(ελέγχου) (από 0.611 μg/g έως 2.163 μg/g), Π3(1:10) (από 0.611 μg/g έως 2.437 μg/g) και Π2(1:5) (από 0.611 μg/g έως 2.85 μg/g). Η συγκέντρωση Pb στον καρδιακό μυ αυξάνεται σταθερά και σημαντικά στις ομάδες Π4(pH:7.0) (από 0.611 μg/g έως 3.1 μg/g) και Π1(αυτούσιο λύμα) (από 0.611 μg/g έως 5.06 μg/g) κατά τη διάρκεια των 12 πρώτων μηνών έκθεσης, ενώ ο ρυθμός συσσώρευσης του Pb στην Π1 κατά τη διάρκεια του τελευταίου εξαμήνου έκθεσης εμφανίζεται ιδιαίτερα αυξημένος. Επίσης, την ίδια περίοδο (24 μήνες), υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.013$) στις τιμές Pb μεταξύ των ομάδων Π1-Π5, ενώ δεν υπάρχει στατιστική σημαντικότητα ($p=0.124$) μεταξύ των ομάδων Π4 -Π5.

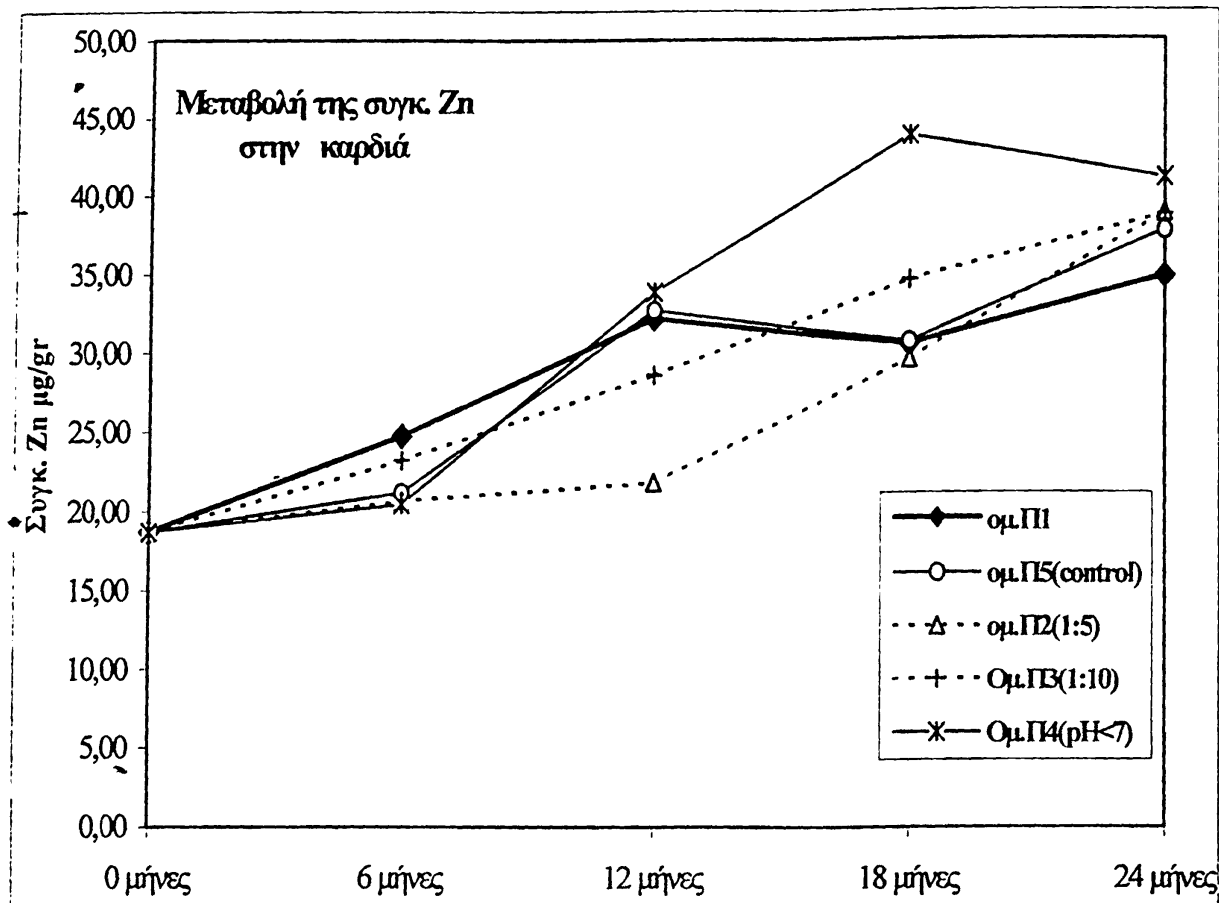
Οι συγκεντρώσεις του Cu (εικ. 44) δεν εμφανίζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων για όλη την περίοδο έκθεσης. Η συσσώρευση Cu για την ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) είναι (από 3.01 μg/g έως 6.25 μg/g) για την Π2(1:5) (από 3.1 μg/g έως 5.7 μg/g), για την Π3(1:10) (από 3.01 μg/g έως 5.44 μg/g), για την Π4(pH:7.0) (από 3.01 μg/g έως 5.89 μg/g) και για την Π5(ελέγχου) (από 3.01 μg/g έως 5.41 μg/g).

Το ίδιο φαίνεται να συμβαίνει και για τον Zn (εικ. 45) στον καρδιακό ιστό καθόλη τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου. Οι συσσωρεύσεις του Zn για κάθε ομάδα είναι: Π1(αυτούσιο λύμα) (από 18.69 $\mu\text{g/g}$ έως 34.82 $\mu\text{g/g}$), Π2(1:5) (από 18.69 $\mu\text{g/g}$ έως 38.87 $\mu\text{g/g}$), Π3(1:10) (από 18.69 $\mu\text{g/g}$ έως 38.78 $\mu\text{g/g}$) και Π5(ελέγχου) (από 18.69 $\mu\text{g/g}$ έως 37.75 $\mu\text{g/g}$). Εξαιρέση αποτελεί η ομάδα Π4(pH:7.0) (από 18.69 $\mu\text{g/g}$ έως 43.79 $\mu\text{g/g}$) όπου φαίνεται ότι η οξίνιση του λύματος βοηθά στη συσσώρευση Zn, ιδιαίτερα μετά τον 1^ο χρόνο έκθεσης.



Εικ. 44: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cu στην καρδιά



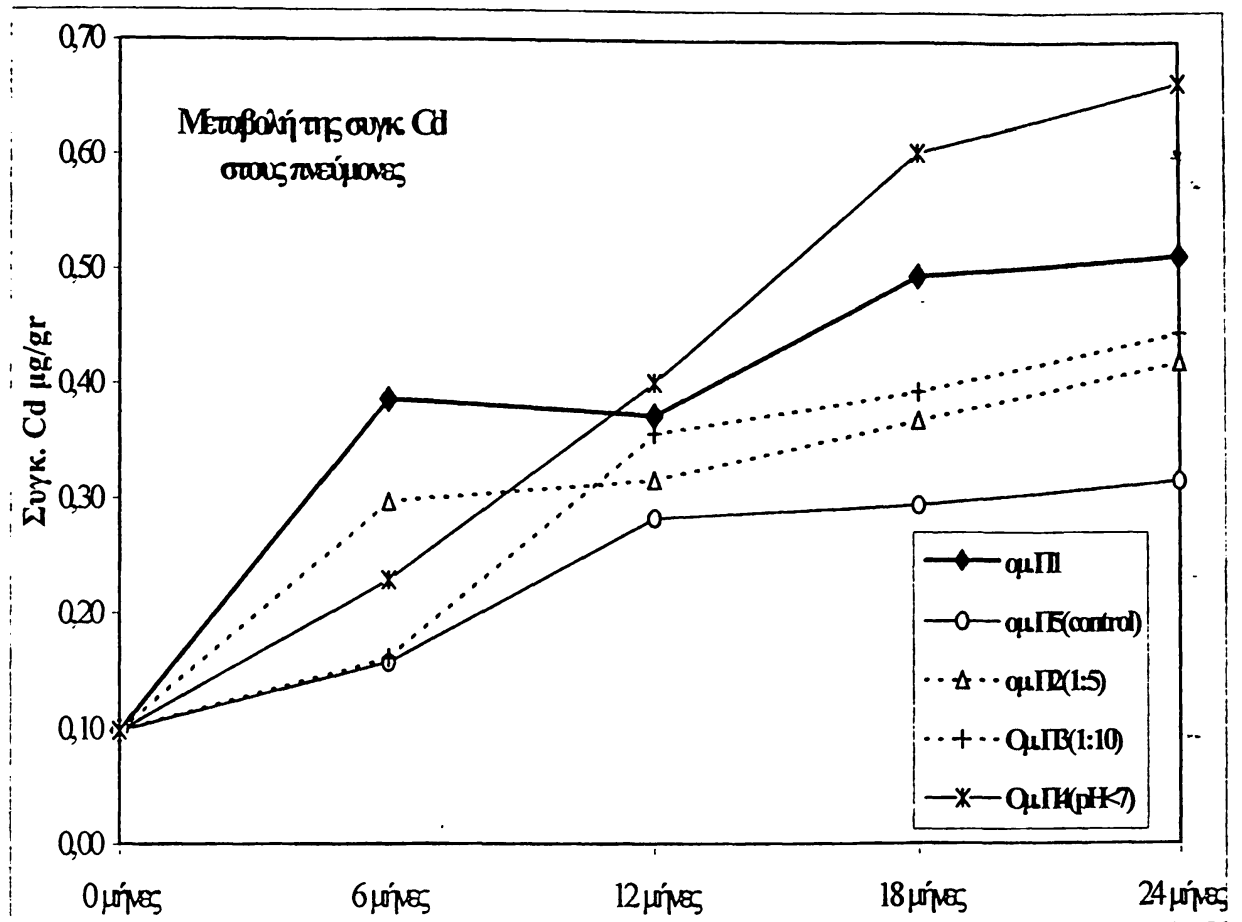


Εικ. 45: Μεταβολές της συγκέντρωσης Zn στην καρδιά

6.4.5 Πνεύμονες

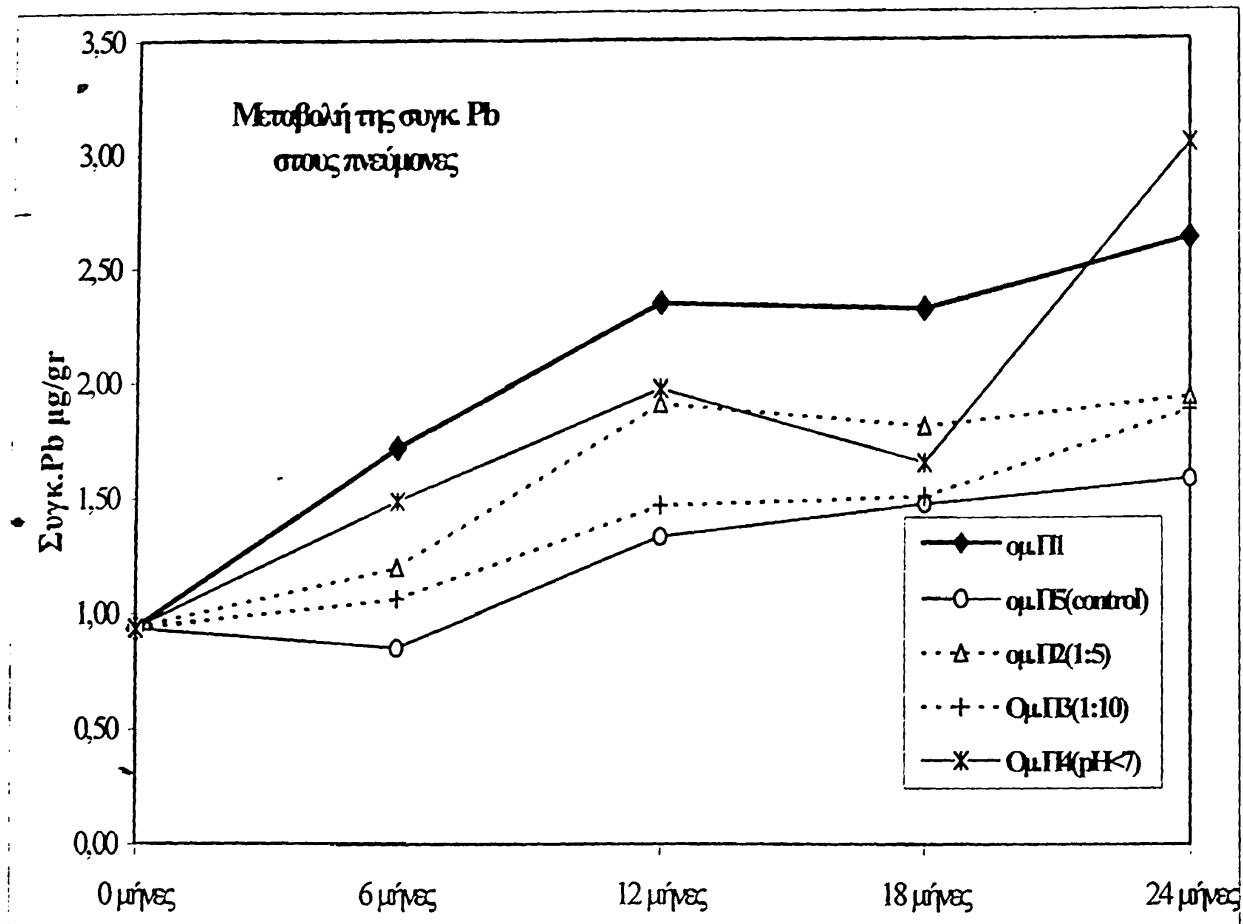
Είναι φανερό (εικ. 46) ότι τη μικρότερη συσσώρευση Cd στους πνεύμονες παρουσιάζουν οι ομάδες Π5(ελέγχου) (από 0.098 µg/g έως 0.316 µg/g), Π2(1:5) (από 0.098 µg/g έως 0.42 µg/g) και Π3(1:10) (από 0.098 µg/g έως 0.445µg/g). Αντίθετα, μεγαλύτερες συσσωρεύσεις εμφανίζονται στην ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) (από 0.098 µg/g έως 0.512 µg/g) και περισσότερο στην Π4(pH:7.0) (από 0.098 µg/g έως 0.664 µg/g). Επίσης, κατά το τέλος της πειραματικής περιόδου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.004$) στις συγκεντρώσεις Cd μεταξύ των ομάδων Π1 - Π5 και Π4 - Π5 ($p=0.003$).





Εικ. 46: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cd στους πνεύμονες

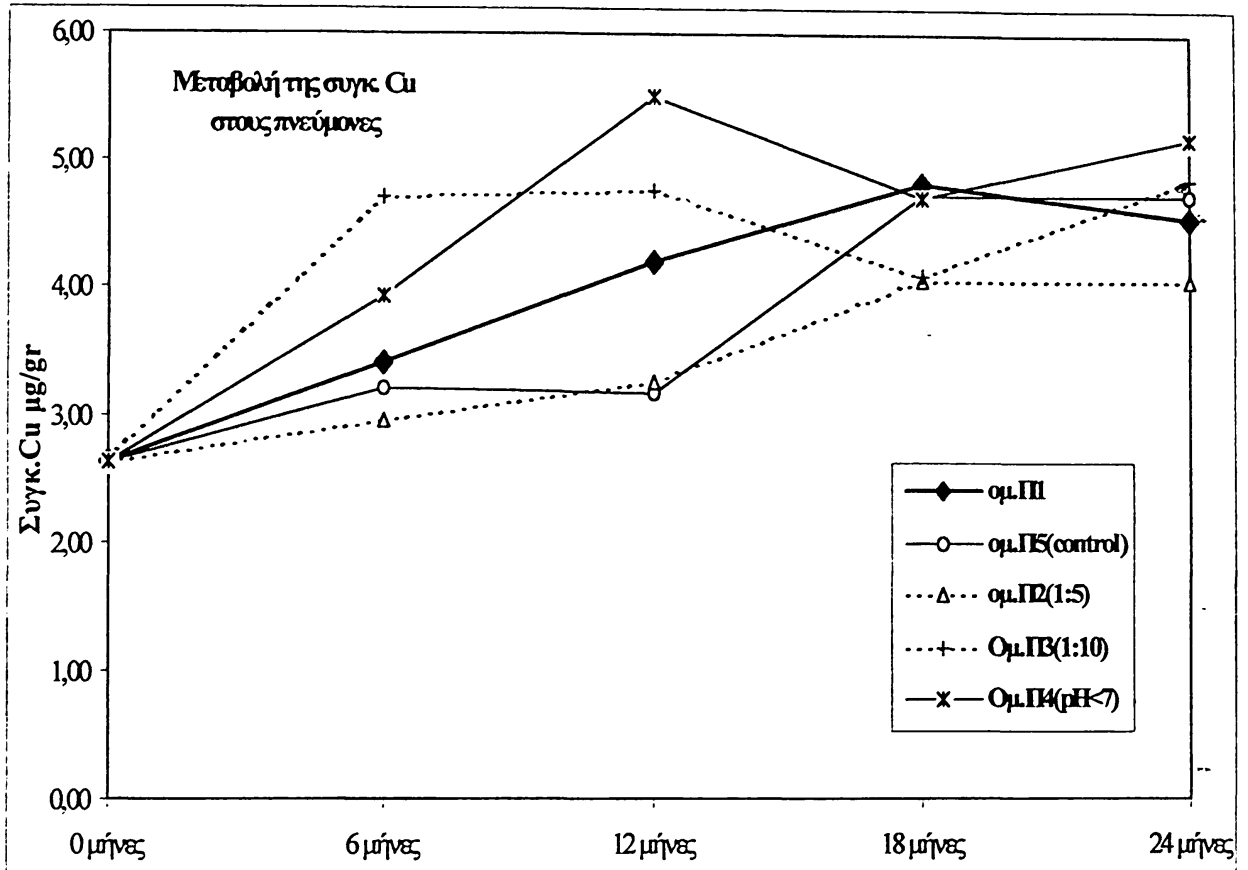
Τα αποτελέσματά μας δείχνουν επίσης (εικ. 47) ότι τη μικρότερη συσσώρευση Pb εμφανίζουν οι ομάδες Π5(ελέγχου) (από 0.937 $\mu\text{g/g}$ έως 1.58 $\mu\text{g/g}$), Π3(1:10) (από 0.937 $\mu\text{g/g}$ έως 1.88 $\mu\text{g/g}$), Π2(1:5) (από 0.937 $\mu\text{g/g}$ έως 1.94 $\mu\text{g/g}$), ενώ τις μεγαλύτερες συσσωρεύσεις Pb εμφανίζουν κυρίως η ομάδα Π4(pH:7.0) (από 0.937 $\mu\text{g/g}$ έως 3.05 $\mu\text{g/g}$), ιδιαίτερα κατά το διάστημα 18-24 μήνες και η ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) (από 0.937 $\mu\text{g/g}$ έως 2.63 $\mu\text{g/g}$) καθόλη την πειραματική έκθεση. Επίσης, τον 24^ο μήνα πειραματισμού υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.036$) μεταξύ των συγκεντρώσεων Pb για τις ομάδες Π1-Π5 και ($p=0.001$) μεταξύ Π4 - Π5.



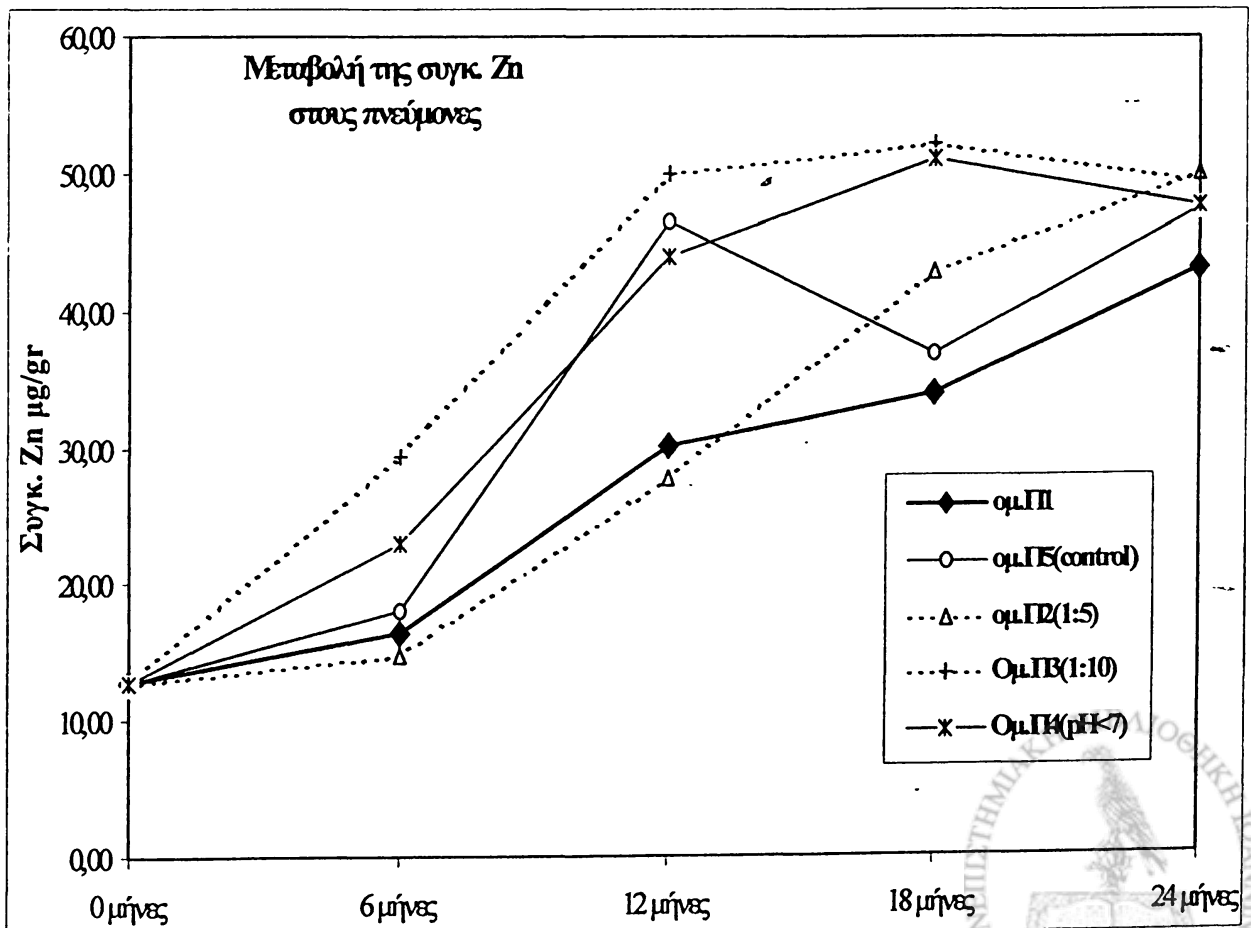
Εικ. 47: Μεταβολές της συγκέντρωσης Pb στους πνεύμονες

Όσον αφορά την συσσώρευση Cu, φαίνεται (εικ. 48) ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων. Η διακύμανση των συγκεντρώσεων για κάθε ομάδα είναι: Π5(ελέγχου) (από 2.63 μg/g έως 4.73 μg/g), Π3(1:10) (από 2.63 μg/g έως 4.71 μg/g), Π2(1:5) (από 2.63 μg/g έως 4.06 μg/g), Π1(αυτούσιο λύμα) (από 2.63 μg/g έως 4.82 μg/g) και Π4(pH:7.0) (από 2.63 μg/g έως 5.51 μg/g). Η Π4 εμφανίζει τη μεγαλύτερη συσσώρευση μετά την περίοδο των 12 πρώτων μηνών έκθεσης, ενώ μετά και μέχρι το τέλος των 24 μηνών δεν εμφανίζονται διαφορές από τις άλλες ομάδες.

Για τον Zn παρατηρείται (εικ. 49) ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στη συσσώρευση Zn στις περισσότερες ομάδες για όλη τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου. Οι συγκεντρώσεις του Zn κυμαίνονται ως εξής: ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) (από 12.68 μg/g.έως 43.13 μg/g), ομάδα Π4(pH:7.0)(από 12.68 μg/g έως 51.0 μg/g), ομάδα Π2(1:5) (από 12.68 μg/g έως 49.92 μg/g), ομάδα Π3(1:10) (από 12.68 μg/g έως 52.07 μg/g) και ομάδα Π5(ελέγχου) (από 12.68 μg/g έως 47.34 μg/g). Αξιοσημείωτο είναι ότι τη μικρότερη συσσώρευση εμφανίζει η ομάδα Π1 σχεδόν σε όλη τη διάρκεια της πειραματικής έκθεσης.



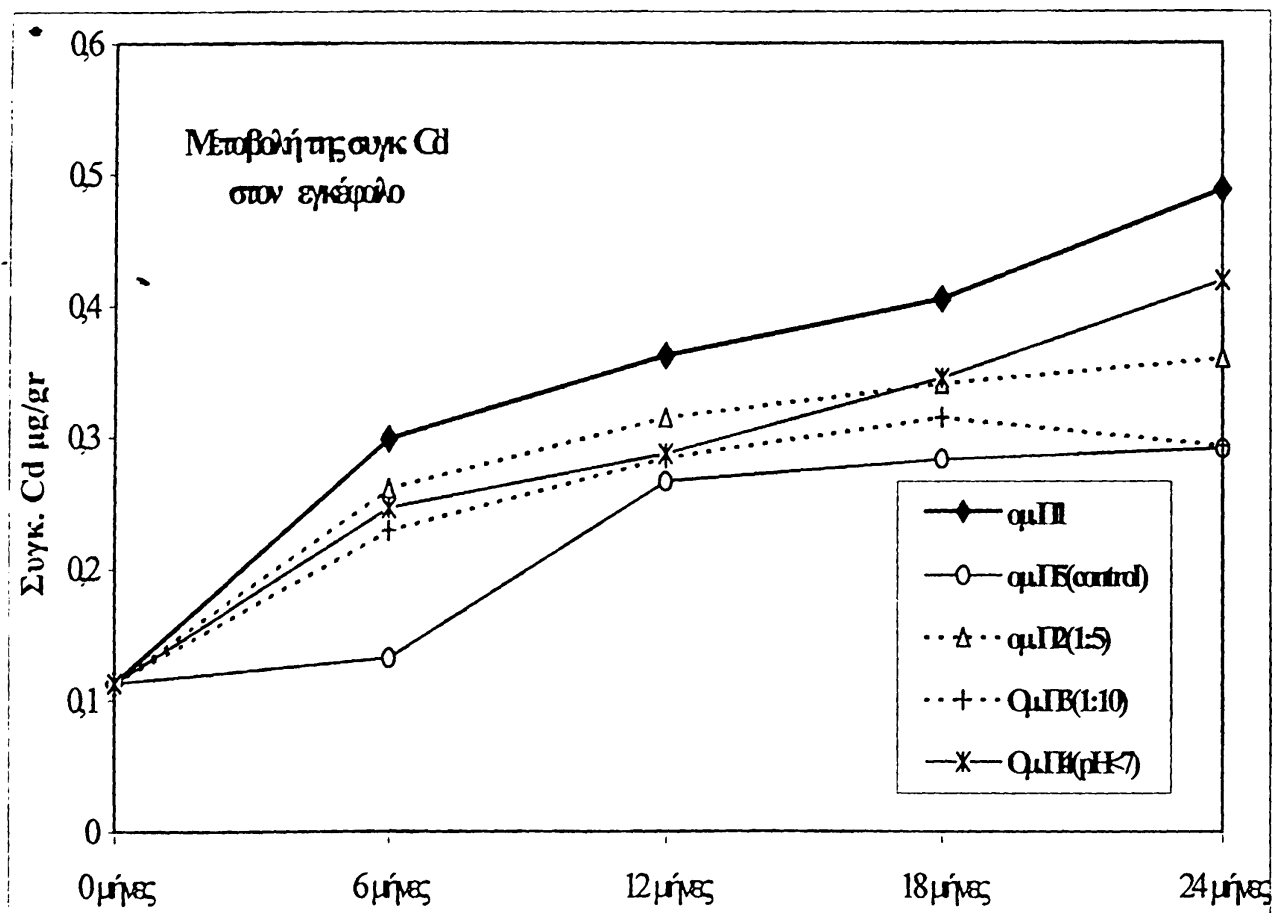
Εικ. 48: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cu στους πνεύμονες



Εικ. 49: Μεταβολές της συγκέντρωσης Zn στους πνεύμονες

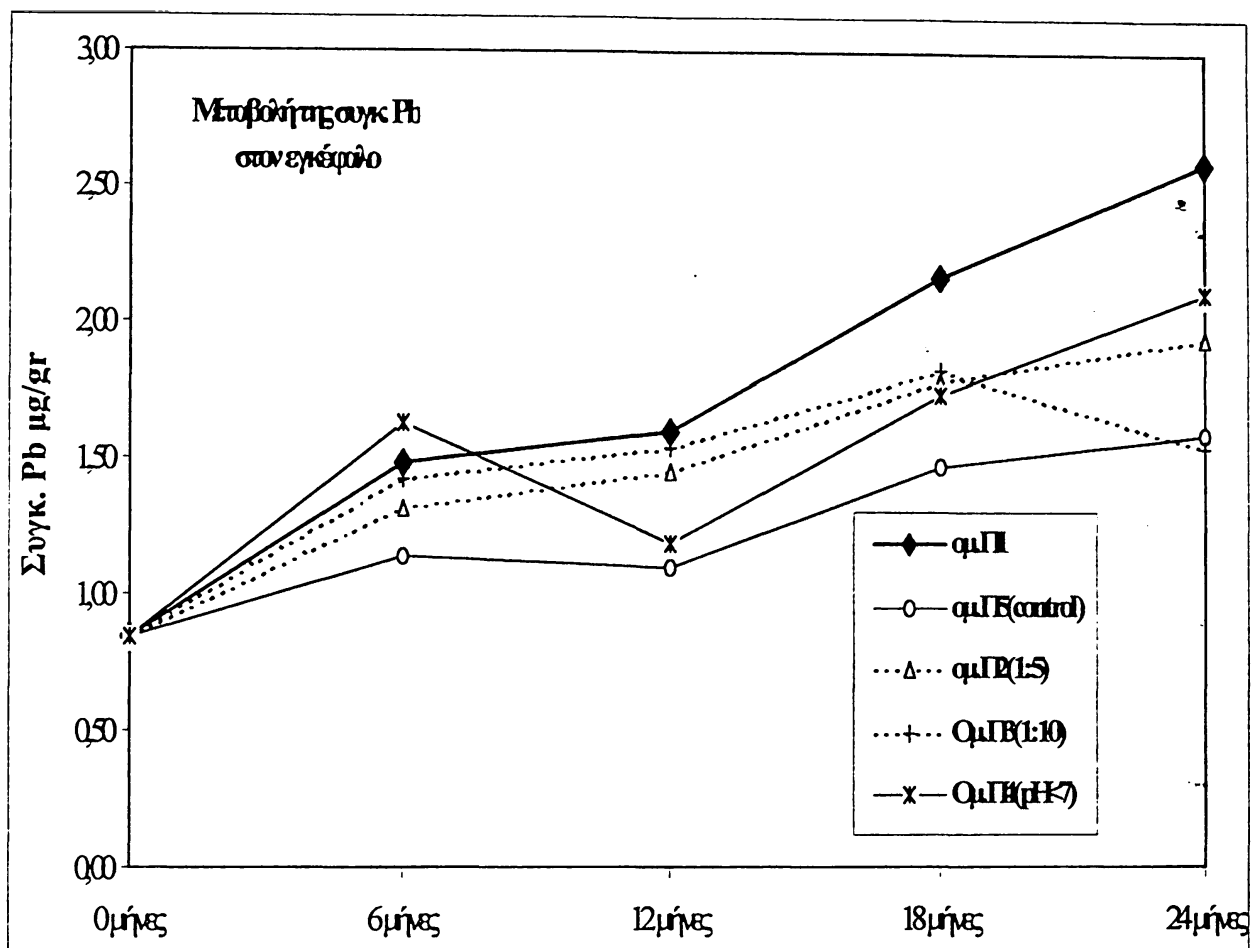
6.4.6 Εγκέφαλος

Τα αποτελέσματά μας (εικ. 50) δείχνουν ότι τη μικρότερη συσσώρευση Cd στον εγκέφαλο παρουσιάζουν οι ομάδες Π5(ελέγχου) (από 0.11 $\mu\text{g/g}$ έως 0.29 $\mu\text{g/g}$), Π3(1:10) (από 0.11 $\mu\text{g/g}$ έως 0.315 $\mu\text{g/g}$), Π2(1:5) (από 0.113 $\mu\text{g/g}$ έως 0.36 $\mu\text{g/g}$). Τη μεγαλύτερη συσσώρευση εμφανίζουν οι ομάδες Π4(pH:7.0) (από 0.113 $\mu\text{g/g}$ έως 0.419 $\mu\text{g/g}$), ιδίως μετά το 18^ο μήνα πειραματισμού, και η ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) (από 0.113 $\mu\text{g/g}$ έως 0.488 $\mu\text{g/g}$). Επίσης, την τελευταία περίοδο πειραματισμού υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.026$) μεταξύ των συγκεντρώσεων Cd για τις ομάδες Π1 - Π5, ενώ δεν υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ Π4 - Π5.

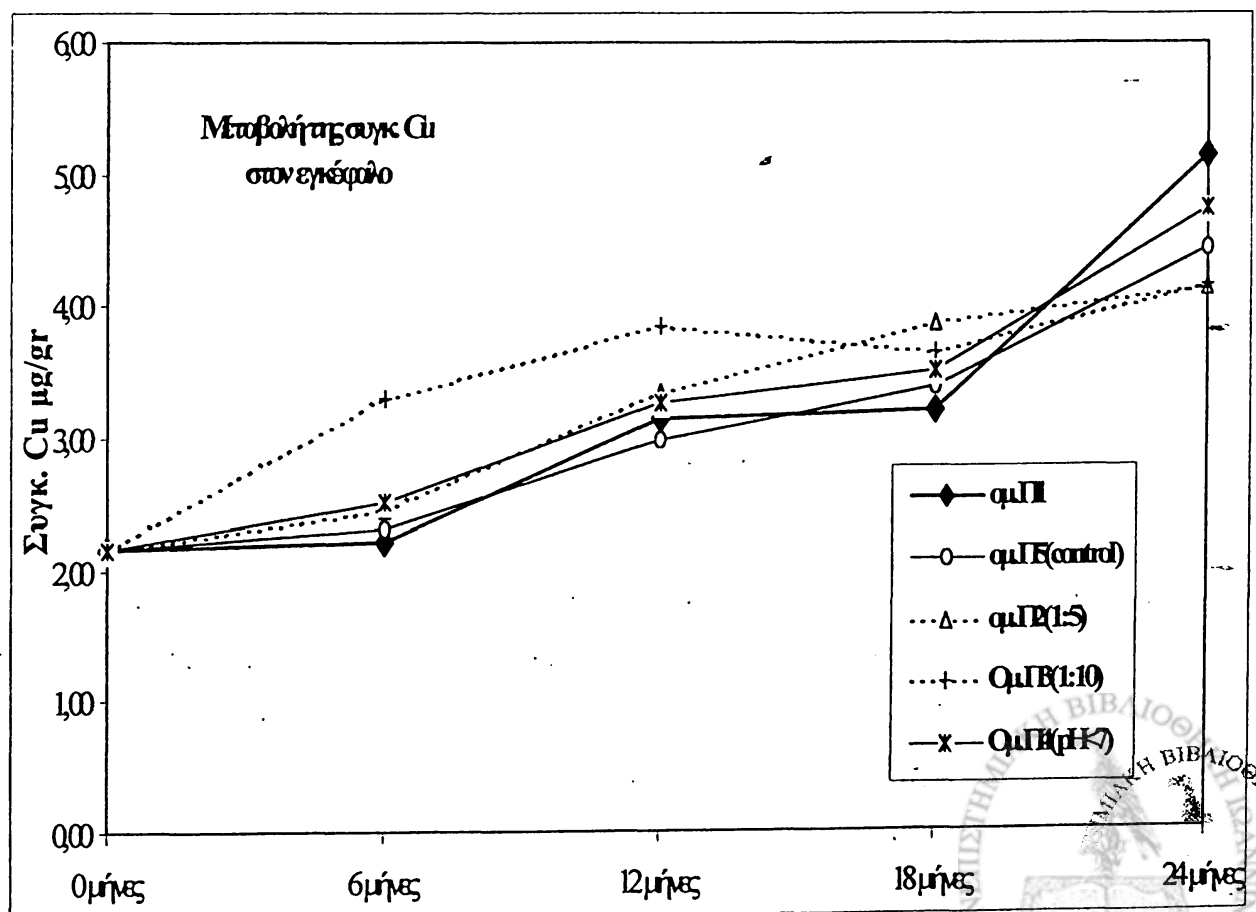


Εικ. 50: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cd στον εγκέφαλο.

Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 51) διαπιστώνουμε ότι δεν υπάρχει σημαντική συσσώρευση Pb για την ομάδα Π5(ελέγχου) (από 0.85 $\mu\text{g/g}$ έως 1.59 $\mu\text{g/g}$), ενώ παρατηρούμε μικρή συσσώρευση για τις Π2(1:5) (από 0.85 $\mu\text{g/g}$ έως 1.94 $\mu\text{g/g}$), Π3(1:10) (από 0.85 $\mu\text{g/g}$ έως 1.83 $\mu\text{g/g}$). Η μεγαλύτερη συσσώρευση καθόλη τη διάρκεια έκθεσης εμφανίζεται στην ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) (από 0.85 $\mu\text{g/g}$ έως 2.58 $\mu\text{g/g}$). Επίσης δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p>0.05$) κατά την λήξη της περιόδου των 24 μηνών μεταξύ των ομάδων Π1-Π5.



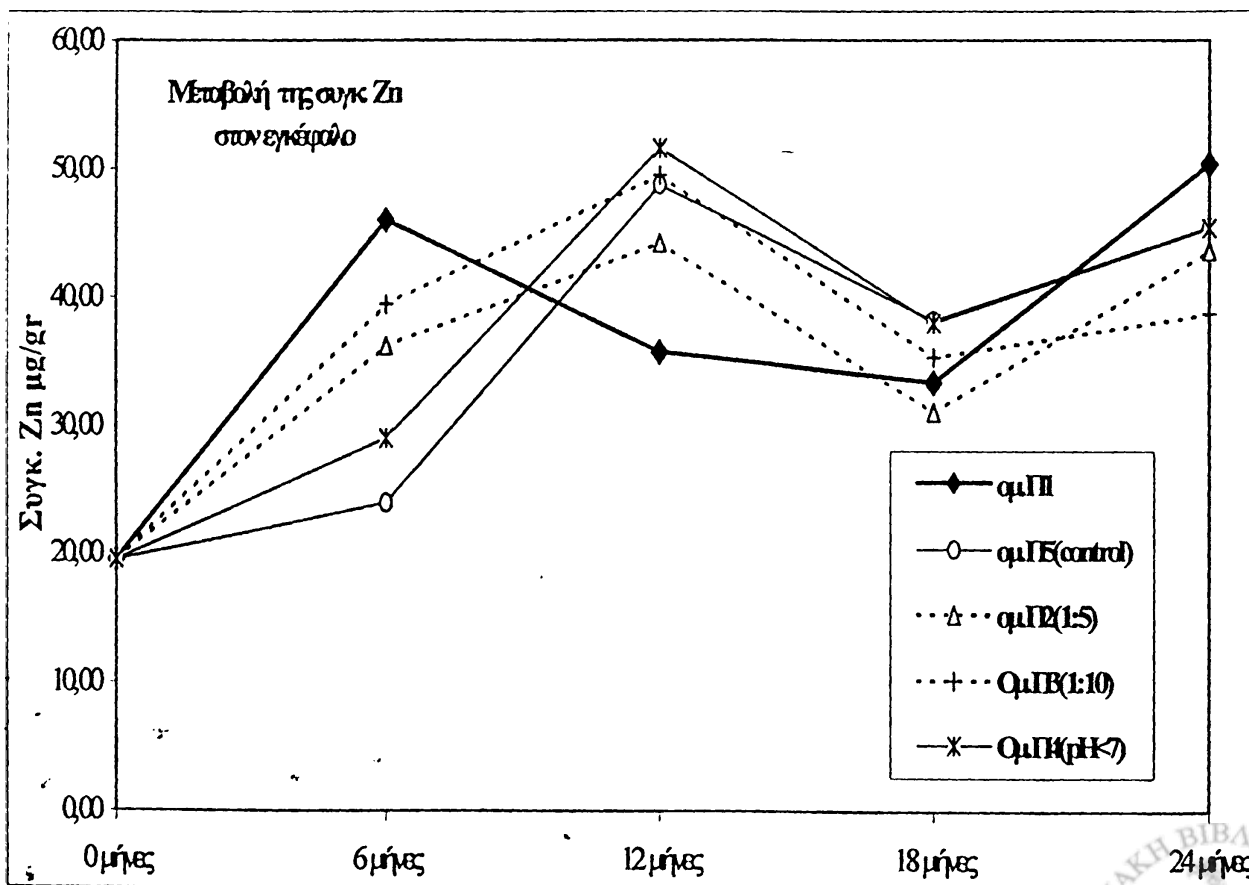
Εικ. 51: Μεταβολές της συγκέντρωσης Pb στον εγκέφαλο.



Εικ. 52: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cu στον εγκέφαλο

Σημαντικές μεταβολές των συγκεντρώσεων Cu (εικ. 52), δεν εμφανίζονται στον εγκέφαλο μεταξύ των ομάδων στην διάρκεια της πειραματικής περιόδου. Οι συγκεντρώσεις Cu για τις ομάδες είναι: Π5(ελέγχου) (από 2.15 $\mu\text{g/g}$ έως 4.44 $\mu\text{g/g}$), Π3(1:10) (από 2.15 $\mu\text{g/g}$ έως 4.16 $\mu\text{g/g}$), Π2(1:5) (από 2.15 $\mu\text{g/g}$ έως 4.13 $\mu\text{g/g}$), Π4(pH:7.0) (από 2.15 $\mu\text{g/g}$ έως 4.73 $\mu\text{g/g}$) και Π1(αυτούσιο λύμα) (από 2.15 $\mu\text{g/g}$ έως 5.13 $\mu\text{g/g}$). Οι συγκεντρώσεις Cu στην ομάδα Π1 εμφανίζονται μειωμένες για την περίοδο 0 –18 μήνες.

Οι συγκεντρώσεις Zn στον εγκέφαλο δείχνουν (εικ. 53) ότι δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ των ομάδων καθόλη τη διάρκεια της έκθεσης. Για την ομάδα Π5(ελέγχου) είναι (από 19.53 $\mu\text{g/g}$ έως 48.72 $\mu\text{g/g}$), για την Π3(1:10) (από 19.53 $\mu\text{g/g}$ έως 49.47 $\mu\text{g/g}$), για την Π2(1:5) (από 19.53 $\mu\text{g/g}$ έως 43.64 $\mu\text{g/g}$), για την Π4(pH:7.0) (από 19.53 $\mu\text{g/g}$ έως 51.60 $\mu\text{g/g}$) και για την Π1(αυτούσιο λύμα) (από 19.53 $\mu\text{g/g}$ έως 50.37 $\mu\text{g/g}$). Παρατηρείται και πάλι μείωση των συγκεντρώσεων Zn για την ομάδα Π1 έως το 18^ο μήνα πειραματισμού.



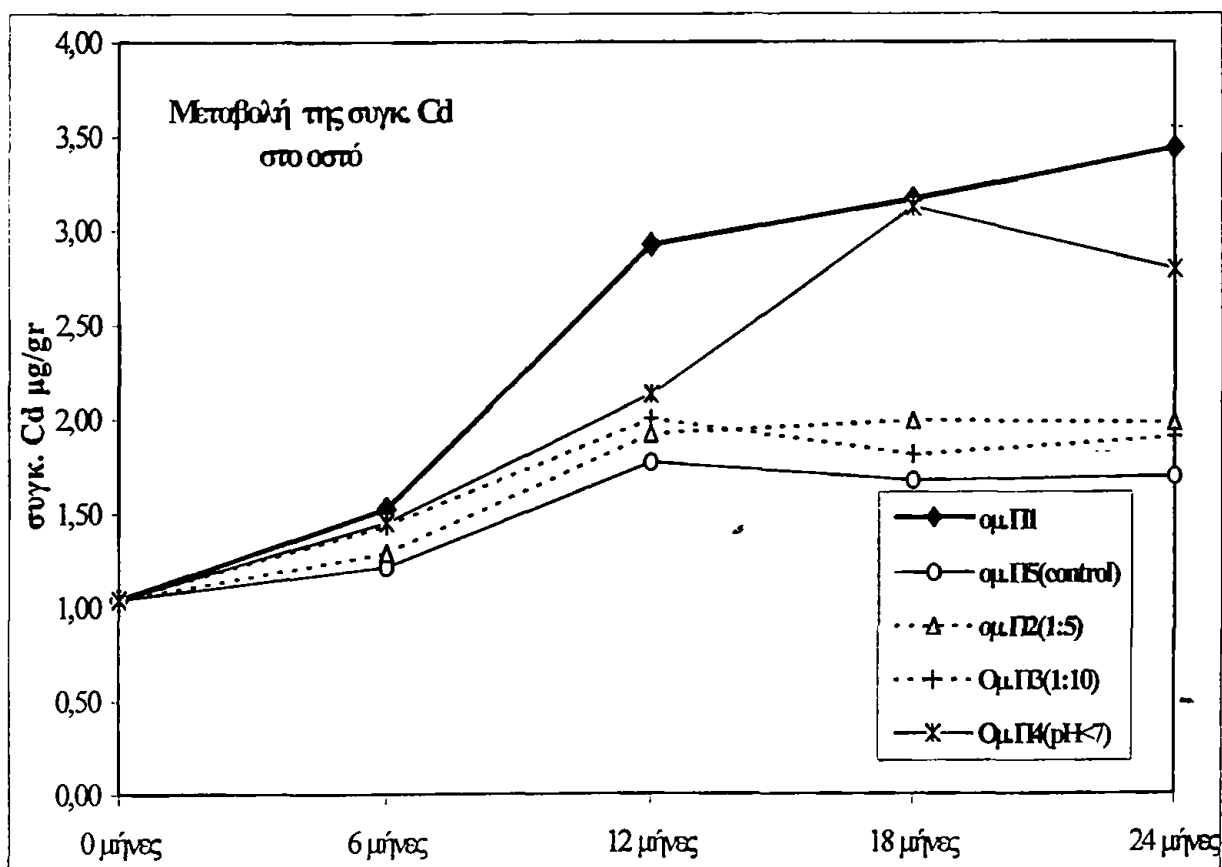
Εικ. 53: Μεταβολές της συγκέντρωσης Zn στον εγκέφαλο



6.4.7 Οστά

Οι συγκεντρώσεις των μετάλλων στα οστά παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον διότι εκεί είναι δυνατόν να ενσωματώνονται ποσότητες μετάλλων, όπως φαίνεται και στα παρακάτω διαγράμματα.

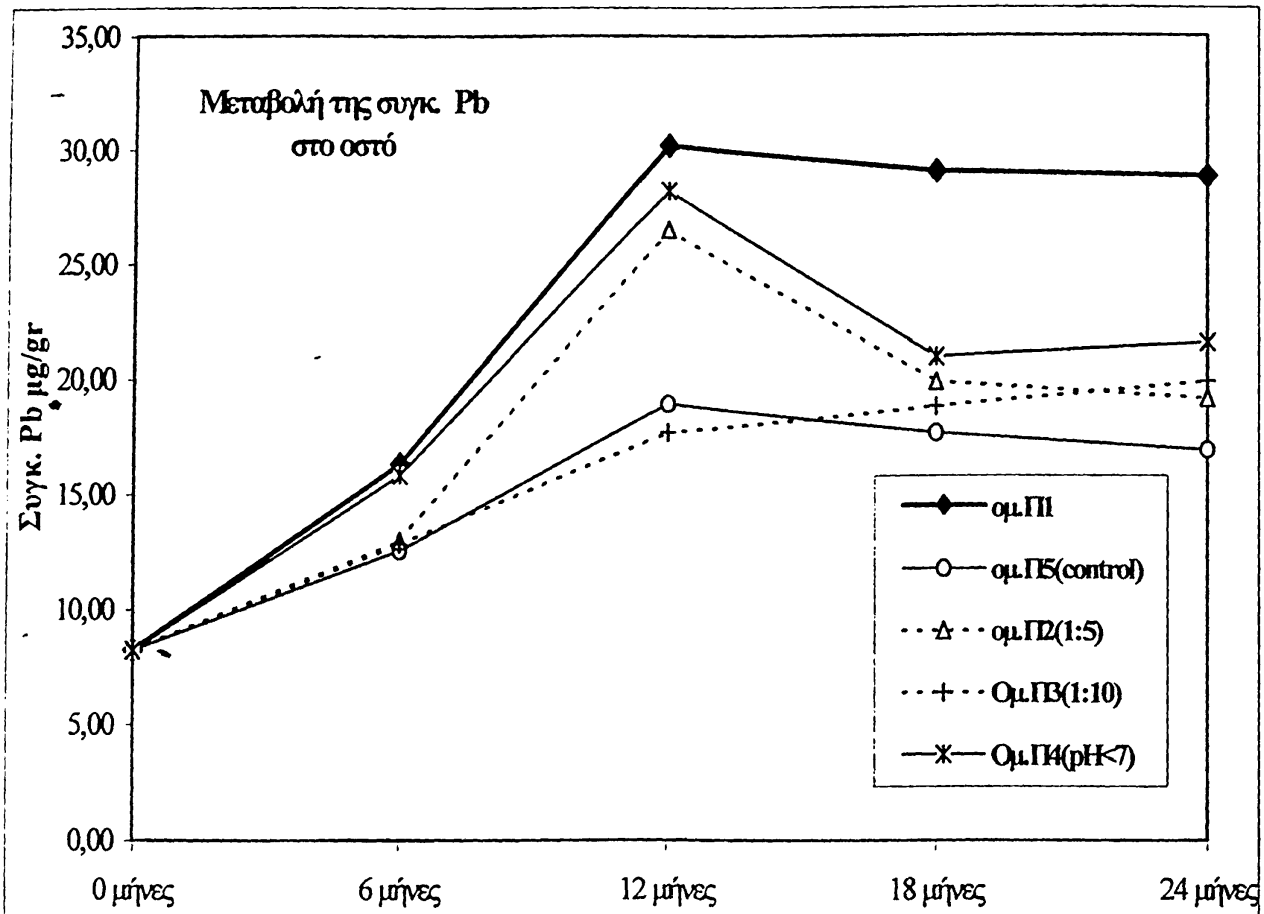
Οι συγκεντρώσεις Cd στο οστό της κνήμης των επίμυων (εικ 54) είναι μικρές για τις ομάδες Π5(ελέγχου) (από 1.04 $\mu\text{g/g}$ έως 1.77 $\mu\text{g/g}$), Π3(1:10) (από 1.04 $\mu\text{g/g}$ έως 2.01 $\mu\text{g/g}$) και Π2(1:5) (από 1.04 $\mu\text{g/g}$ έως 1.99 $\mu\text{g/g}$), ενώ για την Π4(pH:7.0) (από 1.04 $\mu\text{g/g}$ έως 3.12 $\mu\text{g/g}$) και την Π1(αυτούσιο λύμα) (από 1.04 $\mu\text{g/g}$ έως 3.44 $\mu\text{g/g}$), η συσσώρευση Cd είναι σημαντικά μεγαλύτερη. Την τελευταία περίοδο πειραματισμού, υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στη συσσώρευση μεταξύ των ομάδων Π1-Π5 ($p=0.002$) και Π4 - Π5 ($p=0.008$).



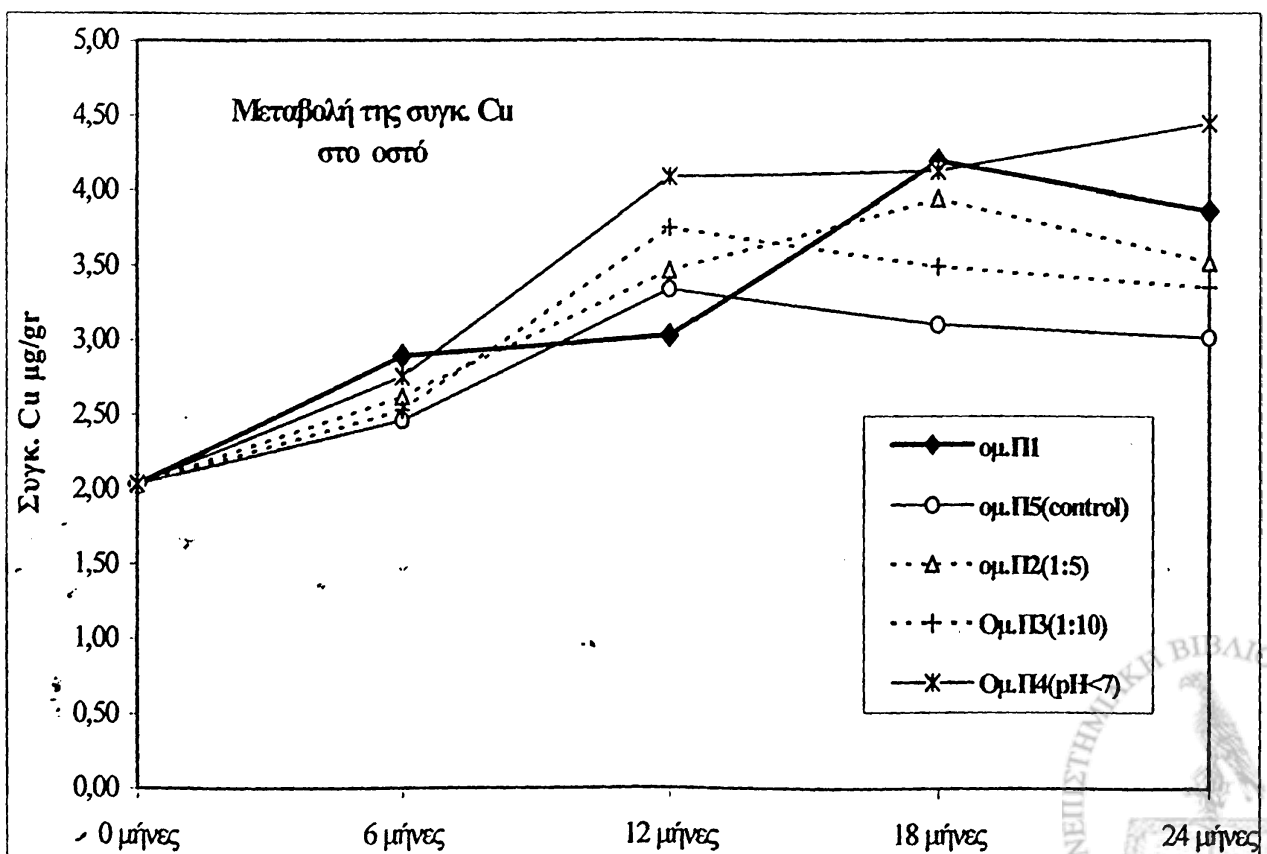
Εικ. 54: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cd στο οστό της κνήμης

Ο Pb εμφανίζεται και αυτός πολύ αυξημένος σε σχέση με τις συγκεντρώσεις στους άλλους ιστούς (σε δεκαπλάσια συγκέντρωση) και κύρια είναι αυξημένος στην ομάδα Π1. Στην εικόνα 55, παρατηρούμε ότι η συσσώρευση Pb στο οστό της κνήμης των επίμυων είναι μικρή για τις ομάδες Π5(ελέγχου) (από 8.24 $\mu\text{g/g}$ έως 18.92 $\mu\text{g/g}$), Π3(1:10) (από 8.24 $\mu\text{g/g}$ έως 19.91 $\mu\text{g/g}$), Π2(1:5) (από 8.24 $\mu\text{g/g}$ έως 26.50 $\mu\text{g/g}$), και Π4(pH:7.0) (από 8.24 $\mu\text{g/g}$ έως 28.19 $\mu\text{g/g}$). Η Π1(αυτούσιο λύμα) (από 8.24 $\mu\text{g/g}$ έως

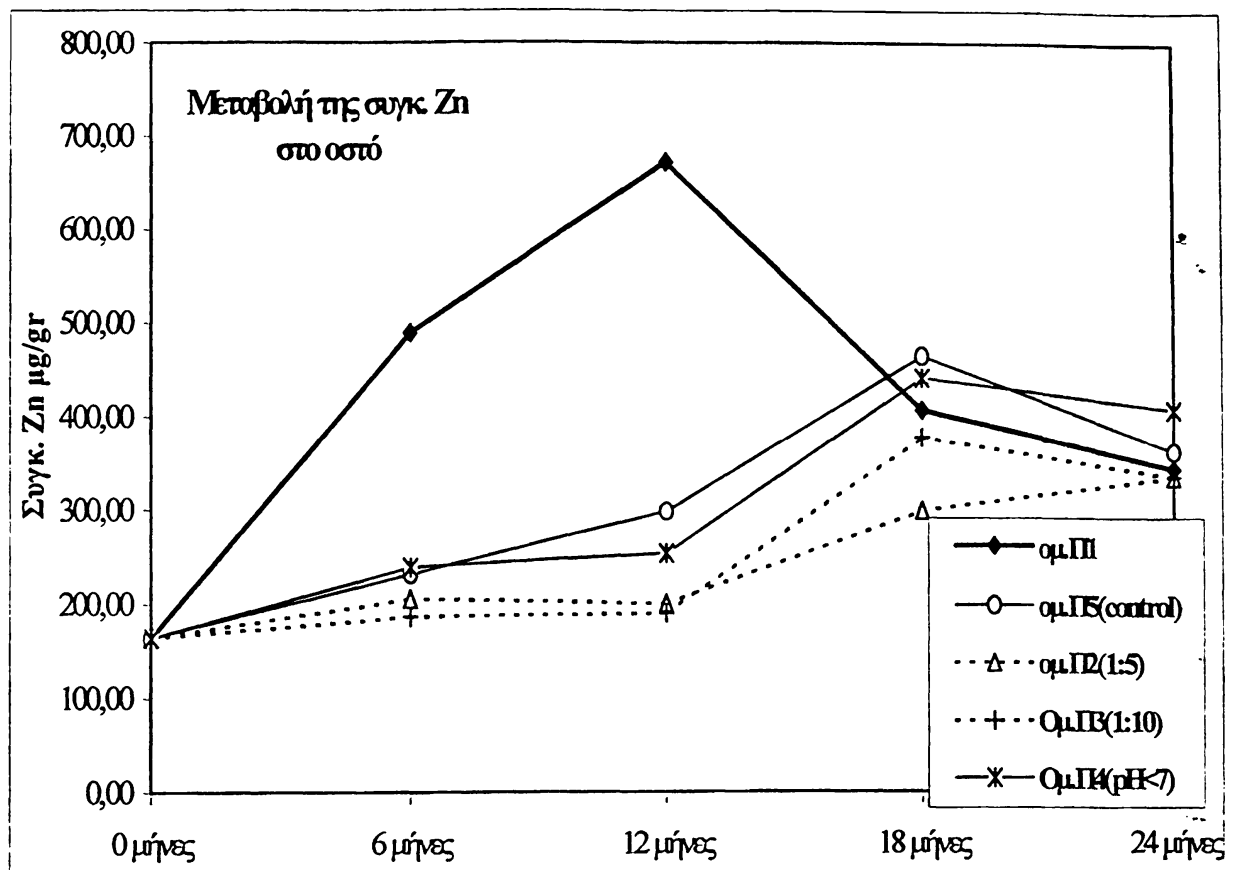
30.18 $\mu\text{g/g}$) όπως και οι άλλες, εμφανίζει σημαντική αύξηση του ρυθμού συσσώρευσης μέχρι τους 12 μήνες, ενώ στο τέλος της έκθεσης των 24 μηνών υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.015$) μεταξύ της Π1 και της Π5.



Εικ. 55: Μεταβολές της συγκέντρωσης Pb στο οστό της κνήμης



Εικ. 56: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cu στο οστό της κνήμης



Εικ. 57: Μεταβολές της συγκέντρωσης Zn στο οστό της κνήμης

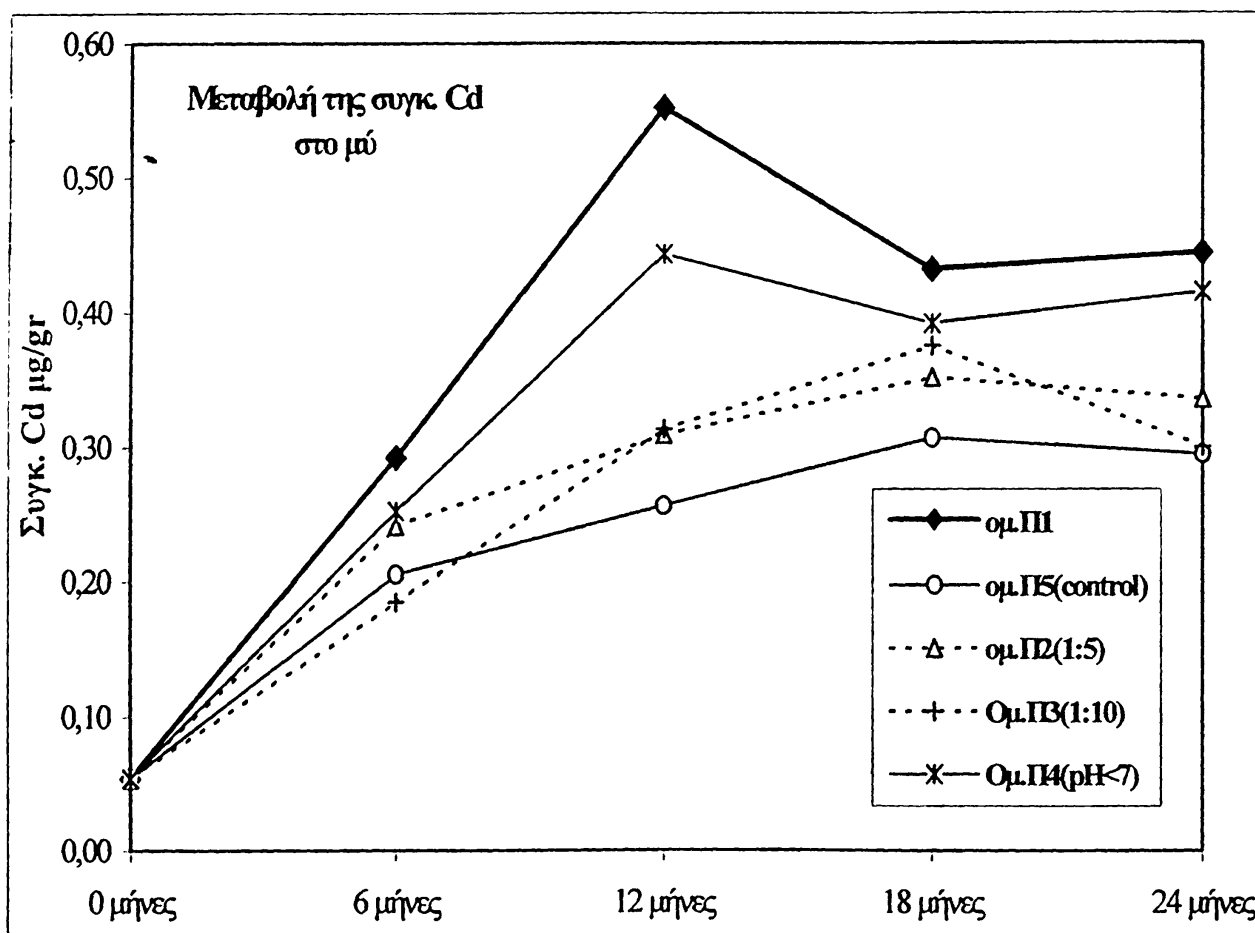
Οι συγκεντρώσεις Cu στο οστό της κνήμης (εικ. 56) δεν εμφανίζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων. Οι συγκεντρώσεις Cu για τις ομάδες είναι: Π5(ελέγχου) (από 2.03 µg/g έως 3.34 µg/g), Π3(1:10) (από 2.03 µg/g έως 3.75 µg/g), Π2(1:5) (από 2.03 µg/g έως 3.34 µg/g), Π4(pH:7.0) (από 2.03 µg/g έως 4.45 µg/g) και Π1(αυτούσιο λύμα) (από 2.03 µg/g έως 4.20 µg/g).

Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 57) φαίνεται ότι υπάρχει σχετικά μικρή συσσώρευση Zn για το οστό της κνήμης για όλες τις ομάδες εκτός της Π1. Συγκεκριμένα έχουμε: Π5(ελέγχου) (από 164.04 µg/g έως 464.66 µg/g), Π3(1:10) (από 164.04 µg/g έως 377.57 µg/g), Π2(1:5) (από 164.04 µg/g έως 335.44 µg/g), Π4(pH:7.0) (από 164.04 µg/g έως 441.20 µg/g) και Π1(αυτούσιο λύμα) (από 164.04 µg/g έως 671.68 µg/g). Η συγκέντρωση Zn στην ομάδα Π1 παρουσιάζεται αυξημένη σχεδόν έως τον 18^ο μήνα έκθεσης.



6.4.8 Μύες

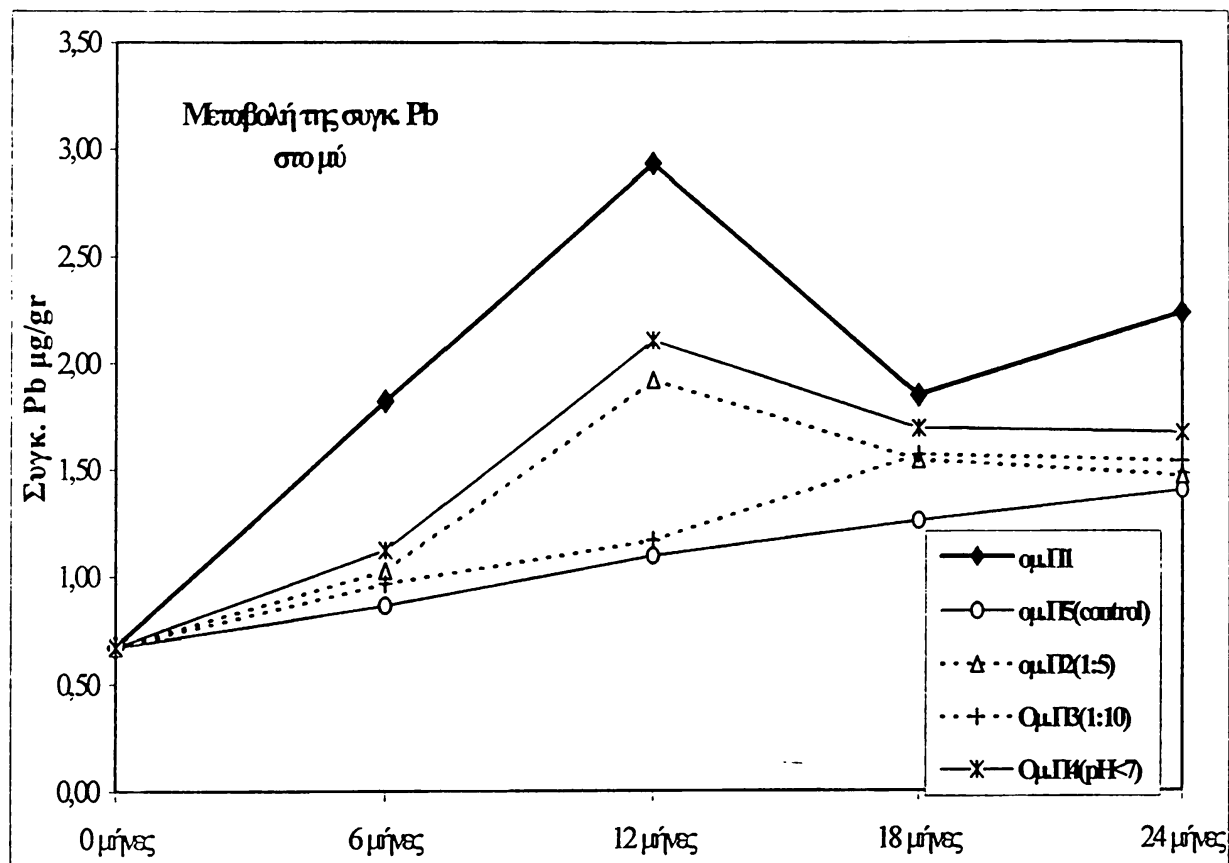
Στους μύες της κνήμης (εικ. 58) η συσσώρευση είναι μικρή για τις ομάδες Π5(ελέγχου) (από 0.05 $\mu\text{g/g}$ έως 0.307 $\mu\text{g/g}$), Π3(1:10) (από 0.05 $\mu\text{g/g}$ έως 0.38 $\mu\text{g/g}$) και Π2(1:5) (από 0.05 $\mu\text{g/g}$ έως 0.34 $\mu\text{g/g}$). Στις άλλες ομάδες που εκτέθηκαν σε αυτούσιο ή οξιμισμένο λύμα του βιολογικού καθαρισμού, οι συσσωρεύσεις είναι σε μεγαλύτερα επίπεδα, στην Π4(pH:7.0) (από 0.05 $\mu\text{g/g}$ έως 0.44 $\mu\text{g/g}$) και στην Π1(αυτούσιο λύμα) (από 0.05 $\mu\text{g/g}$ έως 0.55 $\mu\text{g/g}$). Την τελευταία περίοδο πειραματισμού, υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στη συσσώρευση μεταξύ των ομάδων Π1-Π5 ($p=0.005$) και Π4 -Π5 ($p=0.033$).



Εικ. 58: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cd στο μυ της κνήμης

Στους μύες της κνήμης (εικ. 59) παρουσιάζεται μικρή συσσώρευση Pb στις ομάδες Π5(ελέγχου) (από 0.67 $\mu\text{g/g}$ έως 1.40 $\mu\text{g/g}$), Π3(1:10) (από 0.67 $\mu\text{g/g}$ έως 1.57 $\mu\text{g/g}$), Π2(1:5) (από 0.67 $\mu\text{g/g}$ έως 1.92 $\mu\text{g/g}$) και Π4(pH:7.0) (από 0.67 $\mu\text{g/g}$ έως 2.11 $\mu\text{g/g}$). Για την ομάδα που δεχόταν αυτούσιο το λύμα του βιολογικού καθαρισμού, οι συσσωρεύσεις εμφανίζονται σε μεγαλύτερα επίπεδα, Π1(αυτούσιο λύμα) (από 0.67

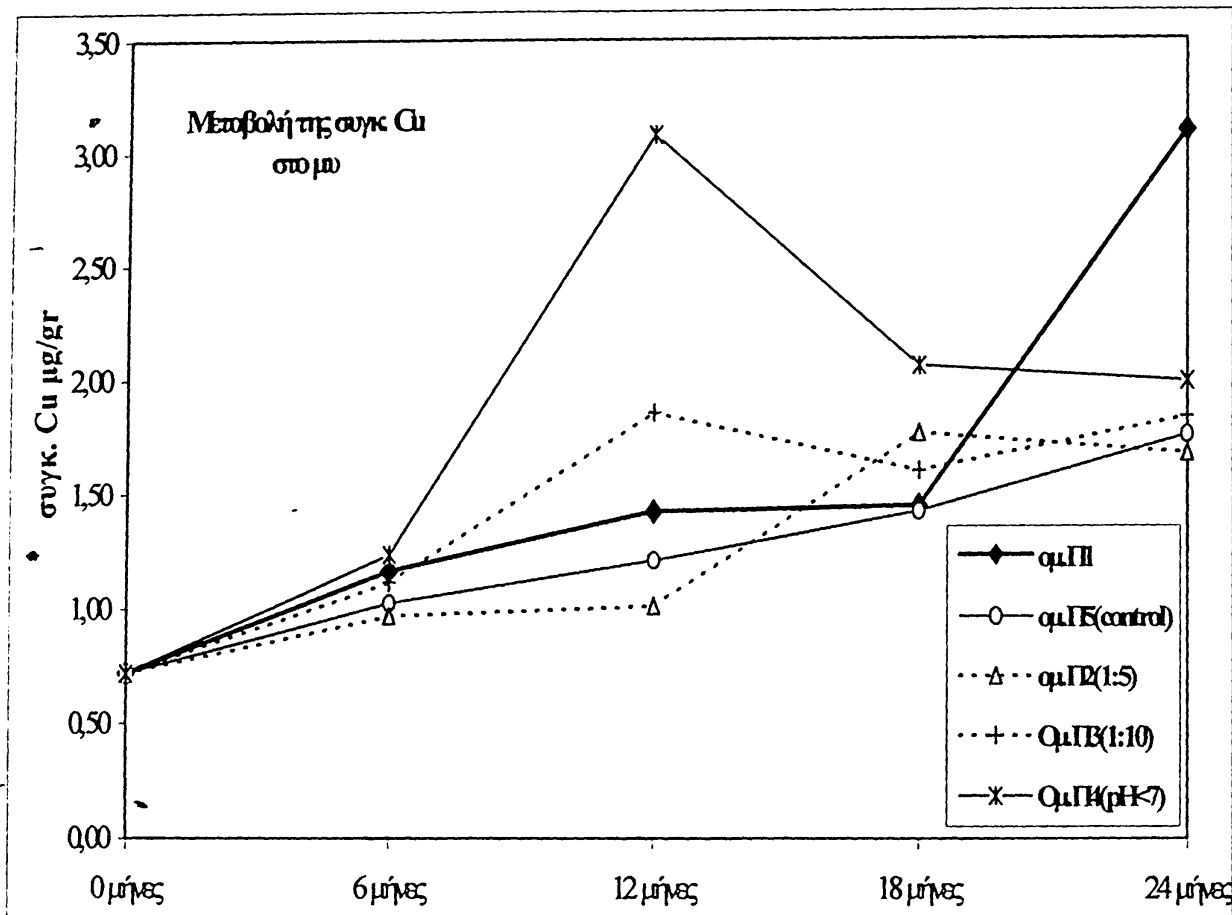
μg/g έως 2.93 μg/g). Την τελευταία περίοδο πειραματισμού, δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στη συσσώρευση ($p=0.06$) μεταξύ των ομάδων Π1-Π5 και Π4 -Π5. Από το διάγραμμα για το Pb διαπιστώνεται ότι υπάρχει σημαντικά αυξημένος ρυθμός συσσώρευσης για την ομάδα Π1 την περίοδο από 0 έως 12 μήνες, παρόλο ότι δεν παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά στο τέλος των 24 μηνών μεταξύ των ομάδων Π1-Π5 ($p=0.06$) και Π4-Π5 ($p=0.33$).



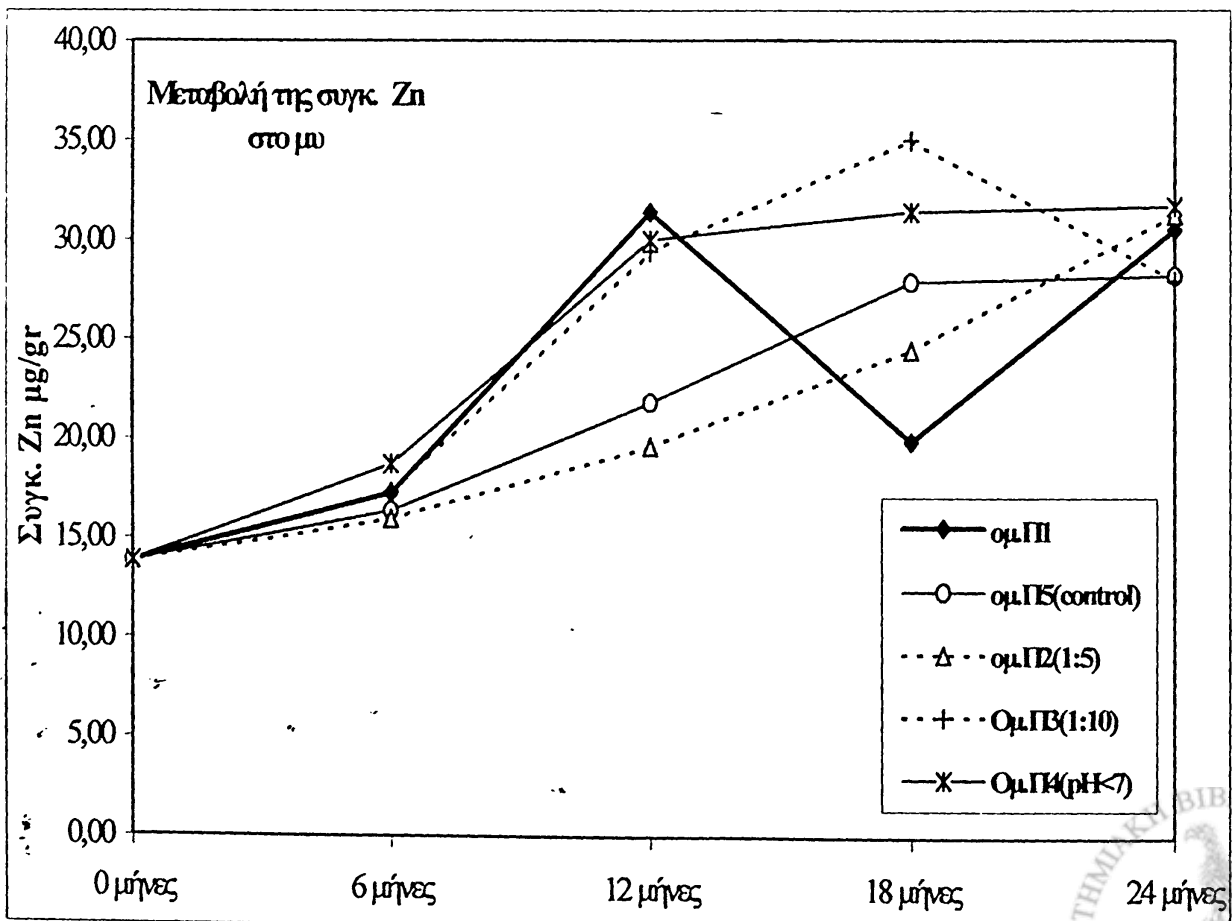
Εικ. 59: Μεταβολές της συγκέντρωσης Pb στο μυ της κνήμης

Οι συγκεντρώσεις Cu για τις ομάδες (εικ. 60) είναι: Π5(ελέγχου) (από 0.72 μg/g έως 1.76 μg/g), Π3(1:10) (από 0.72 μg/g έως 1.86 μg/g), Π2(1:5) (από 0.72 μg/g έως 1.77 μg/g), Π4(pH:7.0) (από 0.72 μg/g έως 3.08 μg/g) και Π1(αυτούσιο λύμα) (από 0.72 μg/g έως 3.09 μg/g). Στο τέλος της περιόδου, των 12 μηνών, ο Cu στην ομάδα Π4 εμφανίζεται αυξημένος στους μύες της κνήμης. Στο τέλος της δεύτερης περιόδου, των 24, μηνών υπάρχει διαφορά (όχι στατιστικά σημαντική) μεταξύ των ομάδων Π1 – Π5 ($p=0.088$) ενώ, μεταξύ των ομάδων Π4 – Π5 ($p=0.337$).

Οι συγκεντρώσεις Zn για τις ομάδες (εικ. 61) είναι: Π5(ελέγχου) (από 13.86 μg/g έως 28.25 μg/g), Π3(1:10) (από 13.86 μg/g έως 34.99 μg/g), Π2(1:5) (από 13.86 μg/g έως 31.29 μg/g), Π4(pH:7.0) (από 13.86 μg/g έως 31.72 μg/g) και Π1(αυτούσιο λύμα) (από 13.86 μg/g έως 31.41 μg/g). Η ομάδα Π1 εμφανίζει τις μικρότερες συγκεντρώσεις Zn το τελευταίο εξάμηνο έκθεσης (18-24μ.).

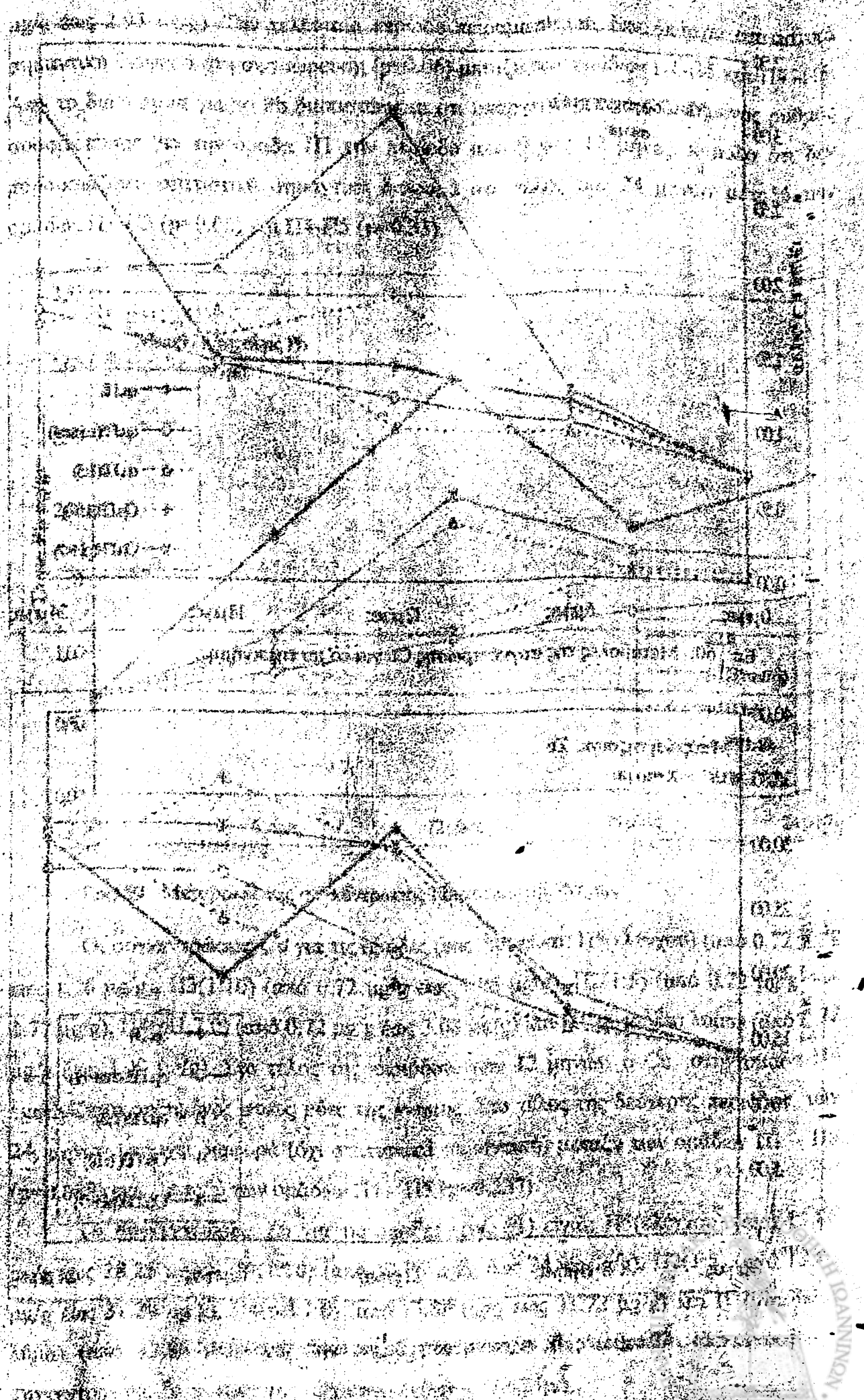


Εικ. 60: Μεταβολές της συγκέντρωσης Cu για το μυ της κνήμης.



Εικ. 61: Μεταβολές της συγκέντρωσης Zn για το μυ της κνήμης.





NONNINO

6.5 Ιστο – παθολογικά ευρήματα

Οι ιστολογικές αλλοιώσεις στα ζώα που εκτέθηκαν στο λύμα, φαίνεται να αφορούν κυρίως τους νεφρούς, το ήπαρ και τους πνεύμονες και μάλιστα με την παραπάνω σειρά, όσον αφορά τόσο το χρόνο εμφάνισης των αλλοιώσεων όσο και τη βαρύτητά τους. Τα αποβιώσαντα ζώα της ομάδας Π1(αυτούσιο λύμα) εμφανίζουν καθόλη τη διάρκεια του πειράματος εκφυλίσεις των νεφρικών σωληναρίων και των αγγειωδών σπειραμάτων, που κυμαίνονται από ήπιες (++) έως βαριές (++++), με αύξουσα βαρύτητα από τους 6 μήνες έκθεσης προς τους 24 μήνες που είναι και η λήξη του πειράματος (Πίν. 24-27).

Οι επίμυες της ομάδας Π1 που απεβίωσαν (δεν θανατώθηκαν προς έλεγχο) παρουσίασαν τις βαρύτερες αλλοιώσεις ιδίως περί τον 18^ο μήνα της έκθεσης (πιν. 26). Αυτήν την περίοδο απεβίωσαν 6 ζώα τα οποία εμφάνισαν βαριές εκφυλίσεις (++++) στα νεφρικά σωληνάκια, στα αγγειώδη σπειράματα και στα ηπατοκύτταρα καθώς και βαριά διάμεση ίνωση (++++) στους πνεύμονες. Την ίδια περίοδο, τα ζώα της ομάδας Π4 (pH:7.0), εμφάνισαν μέτριες εκφυλίσεις στα ίδια όργανα, ενώ ένα ζώο της ίδιας ομάδας που ελέγχθηκε κατόπιν θανάτωσης, παρουσίασε όγκο στομάχου αποτελούμενο από λείες μυικές ίνες.

Τόσο στους νεφρούς όσο και στο ήπαρ και τους πνεύμονες, εμφανίζονται από τους 12 μήνες και μέχρι τέλους της έκθεσης εκτεταμένες εναποθέσεις μελανοπράσινων σωματιδίων μετάλλων διαφόρου μεγέθους, ελαττωμένη κυτταροβρίθια και υπεραιμικά τριχοειδή, που φαίνονται ενίοτε να συνδέονται με φλεγμονώδη αντίδραση του ιστού (πιν. 25). Τα ζώα της Π4 ομάδας εμφανίζουν σαφώς σε ηπιότερο βαθμό από την Π1 τα παραπάνω ευρήματα, αλλά και εμφανώς σοβαρότερα από αυτά της ομάδας Π5(ελέγχου).

Ζώα των ομάδων Π2(1:5) και Π3(1:10) που θανατώθηκαν ή απεβίωσαν εμφάνισαν ήπιες – σπάνιες ιστικές εκφυλίσεις και ελάχιστες έως καθόλου εναποθέσεις σωματιδίων. Σπάνιες ή πολύ μικρές αλλοιώσεις εκφυλιστικού τύπου, χωρίς όμως καθόλου εναποθέσεις σωματιδίων εμφανίζονται και στα ζώα της ομάδας ελέγχου (Π5) μετά τους 18 μήνες έκθεσης (πιν. 26, 27).

Οι περιγραφόμενες εναποθέσεις μεταλλικών σωματιδίων στις ομάδες Π1 και Π4 είναι του τύπου των εγκλείστων ή διάχυτες, βρίσκονται κυρίως στη βασική μεμβράνη των νεφρικών σωληναρίων αλλά και στο ηπατικό παρέγχυμα και τα κυψελιδικά κύτταρα και μάλιστα εντοπίζονται συνήθως γύρω από τα αγγεία του πνευμονικού παρεγχύματος (εικ. 62, 63, 64)



Πίν. 24: Παθολογοανατομικά ευρήματα στα πειραματόζωα μετά από 6 μήνες έκθεσης

| Περίοδος πειραματισμού 6 Μήνες | ΝΕΦΡΟΙ | ΗΠΑΡ | ΠΝΕΥΜΟΝΕΣ |
|---|--|--|--|
| Ομάδα Π1 (αυτούσιο λύμα) Ζώα που θανατώθηκαν | <ul style="list-style-type: none"> • Ήπια (++) εκφύλιση νεφρ. Σωληναρίων • Ήπια (++) κυτταροβρίθια αγγειωδών σπειραμάτων | <ul style="list-style-type: none"> • Χωρίς αλλοιώσεις | |
| Ομάδα Π1 (αυτούσιο λύμα) Ζώα που <u>απεβίωσαν</u> | <ul style="list-style-type: none"> • Ήπια (++) εκφύλιση νεφρ. σωληναρίων • Ήπια (++) κυτταροβρίθια αγγειωδών σπειραμάτων | <ul style="list-style-type: none"> • Χωρίς ουσιαστικές αλλοιώσεις | <ul style="list-style-type: none"> • Πυκνές στρογγυλοκυτταρικές φλεγμονώδεις διηθήσεις περιβραγχικά |
| Ομάδα Π5 (ελέγχου) Ζώα που θανατώθηκαν | <ul style="list-style-type: none"> • Χωρίς αλλοιώσεις στα νεφρικά σωληνάκια και στα αγγειώδη σπειράματα | <ul style="list-style-type: none"> • Χωρίς αλλοιώσεις | |

Πίν. 25: Παθολογοανατομικά ευρήματα στα πειραματόζωα μετά από 12 μήνες έκθεσης

| Περίοδος πειραματισμού 12 Μήνες | ΝΕΦΡΟΙ | ΗΠΑΡ | ΠΝΕΥΜΟΝΕΣ |
|---|---|---|--|
| Ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) Ζώα που θανατώθηκαν | <ul style="list-style-type: none"> • Μέτριες-Βαριές (+++) εκφυλιστικές αλλοιώσεις νεφρ. σωληναρίων • Μέτριες (+++) εκφυλιστικές αλλοιώσεις αγγειωδών σπειραμάτων • Ελάχιστες-μικρές (+) εναποθέσεις μελανοπράσινων σωματιδίων στη βασική μεμβράνη των νεφρικών σωληναρίων | <ul style="list-style-type: none"> • Ελαφρές-Ήπιες (++) εκφυλίσεις των ηπατοκυττάρων • Πολύ σπάνιες (+) εναποθέσεις των μελανοπράσινων σωματιδίων | |
| Ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) Ζώα που <u>απεβίωσαν</u> | <ul style="list-style-type: none"> • Μέτριες (+++)εκφυλιστικές αλλοιώσεις νεφρικών σωληναρίων • Μέτριες (+++)εκφυλιστικές αλλοιώσεις αγγειωδών σπειραμάτων • Άφθονα υπεραϊμικά αγγεία • Άφθονες (++++) εκτεταμένες εναποθέσεις μελανοπράσινων σωματιδίων κυρίως στη βασική μεμβράνη των νεφρ. σωληναρίων και • σπάνια(+) εναπόθεση αυτών στο ενδοθήλιο των αγγείων | <ul style="list-style-type: none"> • Εκτεταμένη (++++) εκφύλιση -νέκρωση ηπατοκυττάρων και • Εκτεταμένες(++++) εναποθέσεις σωματιδίων | <ul style="list-style-type: none"> • Εκτεταμένη διάμεση ίνωση • Αρκετές (+++) εναποθέσεις σωματιδίων |
| Ομάδα Π4 (pH:7.0) Ζώα που θανατώθηκαν | <ul style="list-style-type: none"> • Ελαφρά-Ήπια(++) εκφύλιση νεφρ. Σωληναρ. • Ελαφρά-Ήπια (++) εκφύλιση αγγ. σπειραμ. • Αραιές (++) εναποθέσεις σωματιδίων | <ul style="list-style-type: none"> • Σπάνιες – αραιές (+) εναποθέσεις σωματιδίων | |
| Ομάδα Π5 (ελέγχου) Ζώα που θανατώθηκαν | <ul style="list-style-type: none"> • Όχι ιδιαίτερες αλλοιώσεις των νεφρικών σωληναρίων και σπειραμάτων • Δεν υπάρχουν εναποθέσεις | <ul style="list-style-type: none"> • Χωρίς αλλοιώσεις | |

Πίν. 26: Παθολογοανατομικά ευρήματα στα πειραματόζωα μετά από 18 μήνες έκθεσης

| Περίοδος Πειραματισμού 18 Μήνες | ΝΕΦΡΟΙ | ΗΠΑΡ | ΠΝΕΥΜΟΝΕΣ |
|---|---|---|--|
| Ομάδα Π1 (αυτούσιο λύμα) Ζώα που θανατώθηκαν | <ul style="list-style-type: none"> • Μέτρια έως ικανή (++++) εκφύλιση νεφρ. σωληναρίων και • Μέτριες (+++) εκφυλιστικές αλλοιώσεις αγγειωδών σπειραμάτων • Ήπιες (++) εναποθέσεις σωματιδίων στη βασική μεμβράνη των νεφρ.σωληναρίων | <ul style="list-style-type: none"> • Μέτρια (+++) εκφύλιση των ηπατοκυττάρων • Σπάνιες-μέτριες (++) εναποθέσεις των σωματιδίων | |
| Ομάδα Π1 (αυτούσιο λύμα) Ζώα που <u>απεβίωσαν</u> | <ul style="list-style-type: none"> • Ικανού βαθμού (++++) εκφύλιση νεφρικών σωληναρίων. • Μέτρια (+++) εκφύλιση αγγ.σπειραμάτων • Άφθονες (++++) εκτεταμένες εναποθέσεις μελανοπράσινων σωματιδίων κυρίως στη βασική μεμβράνη των νεφρ. σωλην. • Μέτρια (+++) κυτταροβρίθια σπειραμάτων • Ελαφρά – διάχυτη αιμορραγία (σε ένα ζώο) | <ul style="list-style-type: none"> • Ικανού βαθμού (++++) εκφύλιση – νέκρωση ηπατοκυττάρων • Πυκνές (++++) εναποθέσεις σωματιδίων • Άφθονα υπεραιμικά τριχοειδή αγγεία | <ul style="list-style-type: none"> • Ικανού βαθμού(++++) διάμεση ίνωση • Εμφάνιση φλεγμονής • Πάρα πολλές (++++) εναποθέσεις σωματιδίων • Μεγάλες αλλοιώσεις και εκτεταμένη αιμορραγία |
| Ομάδα Π4 (pH:7.0) Ζώα που θανατώθηκαν | <ul style="list-style-type: none"> • Ήπια-μέτρια (+++) εκφύλιση νεφρ.σωλην. • Ήπια –μέτρια (+++) εκφύλιση αγγ. σπειραμ. • Αραιές (++) εναποθέσεις σωματιδίων | <ul style="list-style-type: none"> • Ήπια(++) εκφύλιση ηπατοκυττάρων • Σπάνιες (+) εναποθέσεις σωματιδίων | |
| Ομάδα Π4 (pH:7.0) Ζώα που <u>απεβίωσαν</u> | <ul style="list-style-type: none"> • Μέτρια-μεγάλη(+++) εκφύλιση νεφρ.σωλην. • Μέτρια-μεγάλη (+++) εκφύλιση αγγ. σπειραμ. • Ήπιες (++) εναποθέσεις σωματιδίων | <ul style="list-style-type: none"> • Σπάνια(+) εκφύλιση ηπατοκυττάρων • Σπάνιες(+) εναποθέσεις σωματιδίων | <ul style="list-style-type: none"> • Μέτρια(+++)διάμεση ίνωση • Εμφάνιση λοίμωξης • Μικρές-ελάχιστες(+) εναποθέσεις σωματιδίων |
| Ομάδα Π2 (1:5) Ζώα που <u>απεβίωσαν</u> | <ul style="list-style-type: none"> • Ήπια(++) εκφύλιση νεφρικών σωληναρίων • Ήπια(++) εκφύλιση αγγειωδών σπειραμάτων • Ελαφρά-σπάνια(+) εναπόθεση σωματιδίων | <ul style="list-style-type: none"> • Καθόλου εκφύλιση ηπατοκυττάρων • Πολύ λίγες(+) εναποθέσεις σωματιδίων | <ul style="list-style-type: none"> • Ήπια (++) διάμεση ίνωση • Σπάνιες-ελάχιστες (+) εναποθέσεις σωματιδίων |
| Ομάδα Π5 (ελέγχου) Ζώα που θανατώθηκαν | <ul style="list-style-type: none"> • Σπάνιες-ελάχιστες(+) εκφυλιστικές αλλοιώσεις των νεφρικών σωληναρίων και των αγγειωδών σπειραμάτων • Δεν υπάρχουν εναποθέσεις | <ul style="list-style-type: none"> • Χωρίς αλλοιώσεις | |

Πίν. 27: Παθολογοανατομικά ευρήματα στα πειραματόζωα μετά από 24 μήνες έκθεσης

| Περίοδος πειραματισμού 24 Μήνες | ΝΕΦΡΟΙ | ΗΠΑΡ | ΠΝΕΥΜΟΝΕΣ |
|--|--|--|-----------|
| Ομάδα Π1 (αυτούσιο λύμα) Ζώα που θανατώθηκαν | <ul style="list-style-type: none"> • Ικανού βαθμού (++++) εκφύλιση νεφρικών σωληναρίων και • Ικανού βαθμού (++++) εκφυλιστικές αλλοιώσεις αγγειωδών σπειραμάτων • Μέτριες (+++) εναποθέσεις μελανοπράσινων σωματιδίων στη βασική μεμβράνη των νεφρικών σωληναρίων | <ul style="list-style-type: none"> • Μέτρια (+++) εκφύλιση των ηπατοκυττάρων • Μέτριες (+++) εναποθέσεις των μελανοπράσινων σωματιδίων | |
| Ομάδα Π3 (1:10) Ζώα που θανατώθηκαν | <ul style="list-style-type: none"> • Μικρή-σπάνια (+) εκφύλιση νεφρ. σωληναρίων • Μικρή-σπάνια (+) εκφύλιση αγγ. σπειραμάτων • Ελάχιστες-αραιές (+) εναποθέσεις σωματιδίων | <ul style="list-style-type: none"> • Χωρίς αλλοιώσεις | |
| Ομάδα Π5 (ελέγχου) Ζώα που θανατώθηκαν | <ul style="list-style-type: none"> • Πολύ μικρές(+) εκφυλιστικές αλλοιώσεις των νεφρικών σωληναρίων και • Πολύ μικρή (+) εκφύλιση αγγειωδών σπειραμ. • Δεν υπάρχουν εναποθέσεις | <ul style="list-style-type: none"> • Χωρίς αλλοιώσεις | |

6.6 Επίπεδα μετάλλων στα όργανα των ζώων που απεβίωσαν κατά τη διάρκεια της πειραματικής έκθεσης.

Στους παρακάτω πίνακες δίνονται οι μετρήσεις των μετάλλων σε διάφορους ιστούς των πειραματοζώων που απεβίωσαν φυσικά. Θα πρέπει να επισημανθεί ότι τα πειραματοζώα έχουν πεθάνει σε διαφορετικούς χρόνους πειραματισμού. Έτσι, τα ζώα της ομάδας Π1(αυτούσιο λύμα) έχουν πεθάνει γύρω στους 18 μήνες πειραματισμού, της Π4(pH:7.0) γύρω στους 26 μήνες, της Π2(1:5) γύρω στους 30 μήνες, της Π3(1:10) γύρω στους 30 μήνες και της Π5(ελέγχου) έχουν πεθάνει μετά τους 32 μήνες πειραματισμού.

Πίν. 28 α : Μεταβολές της συγκέντρωσης Cd στα ζώα που απεβίωσαν (Μεσ. Όρ. ± τυπ. αποκλ.)

| Cd µg/g | Νεφροί | Ήπαρ | Πνεύμονες |
|---------------------|----------------|---------------|---------------|
| Ομάδα Π1(αυτ. λύμα) | 1.288 ± 0.273 | 1.207 ± 0.246 | 0.659 ± 0.104 |
| Ομάδα Π5(ελέγχου) | 0.726 ± 0.274 | 0.700 ± 0.189 | 0.319 ± 0.047 |
| Ομάδα Π2(1:5) | 1.2214 ± 0.187 | 0.807 ± 0.048 | 0.536 ± 0.203 |
| Ομάδα Π3(1:10) | 0.878 ± 0.171 | 0.839 ± 0.207 | 0.576 ± 0.105 |
| Ομάδα Π4(pH:7.0) | 0.935 ± 0.343 | 0.911 ± 0.343 | 0.562 ± 0.140 |

Πίν. 28 β: Μεταβολές της συγκέντρωσης Pb στα ζώα που απεβίωσαν(Μεσ. Όρ. ± τυπ. αποκλ.)

| Pb µg/g | Νεφροί | Ήπαρ | Πνεύμονες |
|---------------------|----------------|---------------|---------------|
| Ομάδα Π1(αυτ. λύμα) | 4.443 ± 0.575 | 3.228 ± 0.896 | 2.650 ± 0.900 |
| Ομάδα Π5(ελέγχου) | 1.436 ± 0.342 | 1.224 ± 0.183 | 0.573 ± 0.128 |
| Ομάδα Π2(1:5) | 2.2794 ± 0.855 | 2.210 ± 0.596 | 2.02 ± 0.141 |
| Ομάδα Π3(1:10) | 2.638 ± 0.312 | 1.953 ± 0.462 | 1.216 ± 0.188 |
| Ομάδα Π4(pH:7.0) | 2.804 ± 0.183 | 2.828 ± 0.479 | 2.218 ± 0.874 |

Πίν. 28 γ : Μεταβολές της συγκέντρωσης Cu στα ζώα που απεβίωσαν (Μεσ. Όρ. ± τυπ. αποκλ.)

| Cu µg/g | Νεφροί | Ήπαρ | Πνεύμονες |
|---------------------|----------------|----------------|---------------|
| Ομάδα Π1(αυτ. λύμα) | 18.133 ± 3.948 | 12.767 ± 5.559 | 8.407 ± 3.241 |
| Ομάδα Π5(ελέγχου) | 7.735 ± 2.593 | 8.290 ± 2.652 | 4.303 ± 1.740 |
| Ομάδα Π2(1:5) | 12.187 ± 4.939 | 10.621 ± 1.206 | 5.63 ± 2.031 |
| Ομάδα Π3(1:10) | 12.846 ± 4.250 | 10.190 ± 2.459 | 5.744 ± 1.687 |
| Ομάδα Π4(pH:7.0) | 12.602 ± 5.297 | 9.372 ± 3.944 | 7.272 ± 2.368 |

Πίν. 28 δ : Μεταβολές της συγκέντρωσης Zn στα ζώα που απεβίωσαν (Μεσ. Όρ. ± τυπ. αποκλ.)

| Zn µg/g | Νεφροί | Ήπαρ | Πνεύμονες |
|---------------------|-----------------|----------------|----------------|
| Ομάδα Π1(αυτ. λύμα) | 48.793 ± 14.631 | 49.756 ± 5.576 | 37.803 ± 8.625 |
| Ομάδα Π5(ελέγχου) | 47.491 ± 5.734 | 50.348 ± 6.268 | 48.705 ± 8.103 |
| Ομάδα Π2(1:5) | 47.7371 ± 3.27 | 53.705 ± 3.005 | 51.657 ± 3.312 |
| Ομάδα Π3(1:10) | 55.913 ± 6.928 | 53.531 ± 2.376 | 53.343 ± 8.525 |
| Ομάδα Π4(pH:7.0) | 43.117 ± 3.137 | 47.725 ± 7.027 | 38.424 ± 3.627 |

6.7 Δείκτες συσσώρευσης ιχνοστοιχείων

- Οι μεγαλύτεροι δείκτες συσσώρευσης (δ.σ.) Cd στο τέλος των 24 μηνών έκθεσης (πιν. 29 α) των ζώων σε λύμα εμφανίζονται στην καρδιά σε όλες τις ομάδες. Στην ομάδα Π1 τα οστά και ο σπλήνας δέχονται επίσης μεγάλη επιβάρυνση (δ.σ. = 103.1%, δ.σ.=94.4% αντίστοιχα), ενώ στην Π4 τη μεγαλύτερη επιβάρυνση εμφανίζουν οι πνεύμονες (110,1%). Στην ομάδα ελέγχου τάση συσσώρευσης Cd εμφανίζουν η καρδιά, ο σπλήνας και η ουροδόχος κύστη.
- Οι δείκτες συσσώρευσης του Pb (πιν. 29 β) το ίδιο διάστημα εμφανίζονται μεγαλύτεροι επίσης στην καρδιά αλλά και στο ήπαρ σε όλες τις ομάδες. Στην Π1 μεγάλη επιβάρυνση φαίνεται να υφίσταται ο νεφρός ενώ στην Π4 και πάλι οι πνεύμονες είναι σχεδόν στόχοι συσσώρευσης του μετάλλου (δ.σ.= 92.9%). Στην ομάδα ελέγχου τάση αυξημένης συσσώρευσης Pb εμφανίζουν επίσης η καρδιά και το ήπαρ.
- Ο Cu (πιν. 29 γ) εμφανίζει μεγάλους δ.σ. στους νεφρούς και στο ήπαρ σε όλες τις ομάδες. Στην Π1 μεγάλη επιβάρυνση εμφανίζουν και οι μύες ενώ στην Π4 τα οστά.
- Ο Zn (πιν. 29 δ) έχει τάση συσσώρευσης στην ουροδόχο κύστη στην ομάδα Π4.

Όλες οι ομάδες εμφανίζουν σημαντικά μικρότερους δείκτες συσσώρευσης από την Π1 για όλα τα μέταλλα και σύμφωνα με την ακόλουθη σειρά: Π1>Π4>Π2>Π3>Π5.



Πιν. 29 α: Δείκτες συσσώρευσης 24μ. Cd και ποσοστά μεταβολής τους σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου.

| ΚΑΔΜΙΟ (Cd) | | | | | |
|-------------|---------------|-----------------|--------------|--------------|--------------------|
| | Ομ.Π1 | Ομ.Π4 (pH<7) | Ομ.Π2 (1:5) | Ομ.Π3 (1:10) | Ομ.Π5 (control) |
| Σπλήνας | 31,93 (94,4) | 22,42 (36,5) | 24,87 (51,4) | 20,94 (27,5) | 16,42 |
| Νεφρός | 2,63 (78,9) | 2,47 (67,9) | 2,00 (36,1) | 1,64 (11,6) | 1,47 |
| Ουρ. κυστη | 13,32 (87,7) | 12,71 (79,1) | 10,23 (44,1) | 9,10 (28,2) | 7,10 |
| Όρχεις | 3,70 (61,1) | 3,41 (48,7) | 3,10 (35,0) | 2,97 (29,5) | 2,29 |
| Ήπαρ | 2,52 (65,1) | 2,42 (58,4) | 1,85 (21,0) | 1,91 (25,1) | 1,53 |
| Καρδιά | 28,00 (145,0) | 23,57 (106,3) | 18,61 (62,8) | 16,71 (46,3) | 11,43 |
| Πνεύμονες | 5,23 (62,2) | 6,78 (110,1) | 4,29 (32,9) | 4,54 (40,8) | 3,22 |
| Εγκέφαλος | 4,32 (67,70) | 3,71 (44,0) | 3,19 (23,7) | 2,59 (0,7) | 2,58 |
| Οστά | 3,30 (103,1) | 2,68 (64,8) | 1,90 (17,0) | 1,83 (12,5) | 1,62 |
| Μύες | 8,24 (50,8) | 7,70 (41,0) | 6,22 (13,9) | 5,57 (2,0) | 5,46 |

Πιν. 29 β: Δείκτες συσσώρευσης 24μ. Pb και ποσοστά μεταβολής τους σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου.

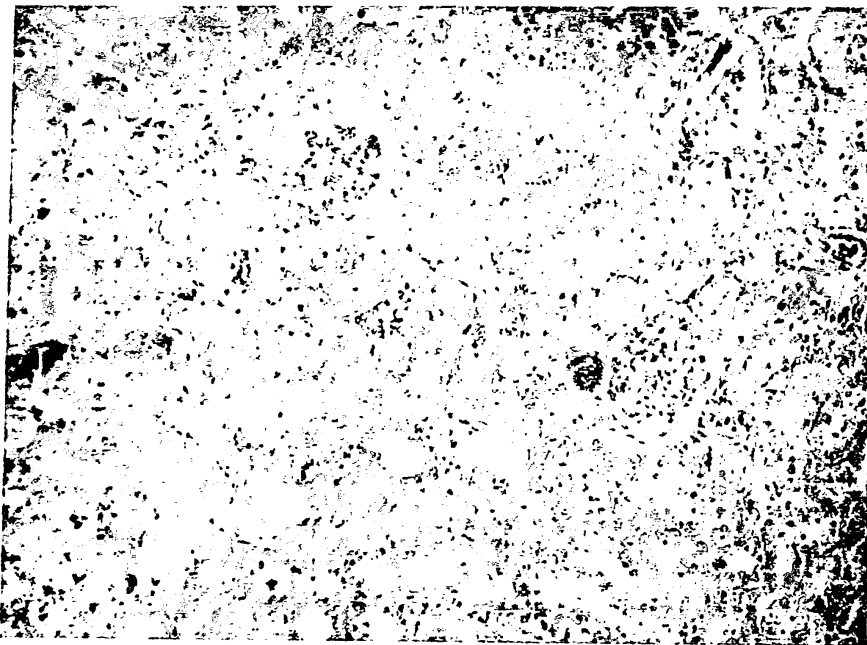
| ΜΟΛΥΒΔΟΣ (Pb) | | | | | |
|---------------|--------------|-----------------|-------------|--------------|--------------------|
| | Ομ.Π1 | Ομ.Π4 (pH<7) | Ομ.Π2 (1:5) | Ομ.Π3 (1:10) | Ομ.Π5 (control) |
| Σπλήνας | 3,60 (68,4) | 2,68 (25,3) | 2,54 (19,0) | 2,80 (31,0) | 2,14 |
| Νεφρός | 3,30 (131,6) | 1,97 (38,5) | 1,67 (17,1) | 1,38 (-3,0) | 1,42 |
| Ουρ. κυστη | 2,70 (25,9) | 2,34 (8,8) | 2,02 (-6,0) | 2,14 (-0,4) | 2,15 |
| Όρχεις | 4,33 (73,2) | 3,81 (52,5) | 2,61 (4,7) | 2,93 (17,3) | 2,50 |
| Ήπαρ | 5,37 (95,8) | 3,77 (37,4) | 3,40 (23,9) | 3,63 (32,4) | 2,74 |
| Καρδιά | 8,28 (133,8) | 5,07 (43,3) | 4,66 (31,8) | 3,99 (12,7) | 3,54 |
| Πνεύμονες | 2,81 (66,5) | 3,25 (92,9) | 2,07 (22,8) | 2,01 (19,1) | 1,69 |
| Εγκέφαλος | 3,05 (62,8) | 2,49 (32,6) | 2,30 (22,5) | 1,82 (-3,2) | 1,88 |
| Οστά | 3,50 (70,5) | 2,62 (27,8) | 2,33 (13,4) | 2,42 (17,8) | 2,05 |
| Μύες | 3,31 (59,3) | 2,48 (19,3) | 2,18 (4,9) | 2,28 (9,6) | 2,08 |

Πιν. 29 γ: Δείκτες συσσώρευσης 24μ. Cu και ποσοστά μεταβολής τους σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου

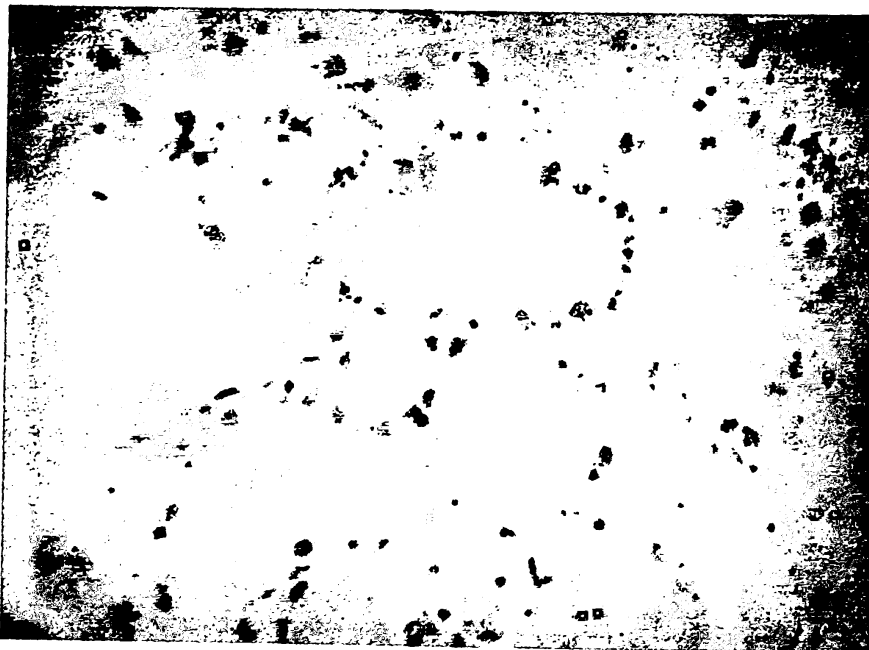
| ΧΑΛΚΟΣ (Cu) | | | | | |
|-------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|--------------------|
| | Ομ.Π1 | Ομ.Π4 (pH<7) | Ομ.Π2 (1:5) | Ομ.Π3 (1:10) | Ομ.Π5 (control) |
| Σπλήνας | 1,93 (13,2) | 1,60 (-6,0) | 1,67 (-2,1) | 1,53 (-10,4) | 1,71 |
| Νεφρός | 2,88 (100,9) | 2,36 (64,6) | 2,16 (50,5) | 2,02 (41,2) | 1,43 |
| Ουρ. κυστη | 1,92 (33,7) | 1,86 (29,5) | 1,59 (10,5) | 1,48 (2,9) | 1,44 |
| Όρχεις | 2,83 (26,3) | 2,74 (22,0) | 2,22 (-1,2) | 2,10 (-6,5) | 2,24 |
| Ήπαρ | 1,99 (53,5) | 1,83 (41,0) | 1,88 (44,6) | 1,46 (12,7) | 1,30 |
| Καρδιά | 2,07 (15,5) | 1,95 (8,8) | 1,89 (5,4) | 1,80 (0,6) | 1,79 |
| Πνεύμονες | 1,72 (-3,8) | 1,97 (9,8) | 1,54 (-14,0) | 1,84 (2,7) | 1,79 |
| Εγκέφαλος | 2,39 (15,6) | 2,21 (6,7) | 1,93 (-6,8) | 1,94 (-6,3) | 2,07 |
| Οστά | 1,90 (28,1) | 2,19 (47,4) | 1,73 (16,8) | 1,65 (11,2) | 1,48 |
| Μύες | 4,30 (76,1) | 2,77 (13,4) | 2,33 (-4,6) | 2,55 (4,5) | 2,45 |

Πιν. 29 δ: Δείκτες συσσώρευσης 24μ. Zn και ποσοστά μεταβολής τους σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου

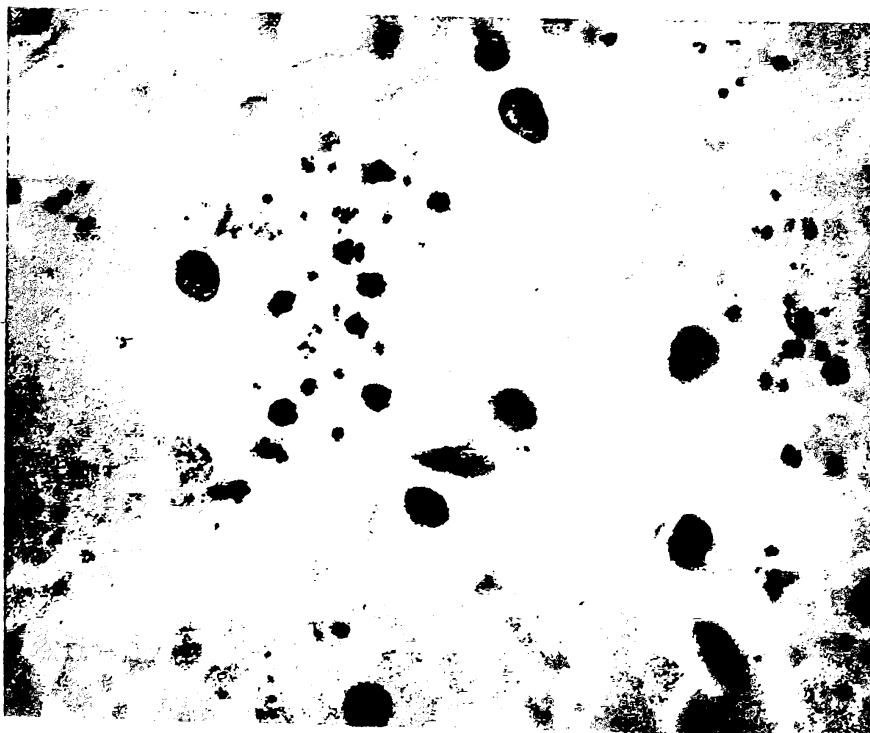
| ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΣ (Zn) | | | | | |
|---------------------|-------------|-----------------|-------------|--------------|--------------------|
| | ομ.Π1 | Ομ.Π4 (pH<7) | ομ.Π2 (1:5) | Ομ.Π3 (1:10) | ομ.Π5 (control) |
| Σπλήνας | 1,97 (15,0) | 1,73 (0,6) | 1,78 (3,4) | 1,63 (-5,1) | 1,72 |
| Νεφρός | 2,38 (11,3) | 2,27 (6,4) | 2,08 (-2,4) | 2,10 (-1,6) | 2,13 |
| Ουρ. κυστη | 2,03 (6,2) | 2,53 (32,3) | 2,23 (16,8) | 2,15 (12,4) | 1,91 |
| Όρχεις | 2,82 (6,6) | 2,70 (2,3) | 2,59 (-1,9) | 2,65 (0,3) | 2,64 |
| Ήπαρ | 2,04 (18,0) | 1,94 (12,6) | 1,81 (5,0) | 1,68 (-2,8) | 1,73 |
| Καρδιά | 1,86 (-7,8) | 2,20 (8,9) | 2,08 (3,0) | 2,08 (2,7) | 2,02 |
| Πνεύμονες | 3,40 (-8,9) | 3,75 (0,4) | 3,94 (5,5) | 3,90 (4,4) | 3,73 |
| Εγκέφαλος | 2,58 (10,8) | 2,33 (-0,1) | 2,23 (-4,0) | 1,98 (-14,8) | 2,33 |
| Οστά | 2,10 (-5,1) | 2,48 (12,4) | 2,04 (-7,4) | 2,04 (-7,6) | 2,21 |
| Μύες | 2,20 (8,2) | 2,29 (12,3) | 2,26 (10,8) | 2,02 (-0,9) | 2,04 |



Εικ. 62.α: Φυσιολογικός νεφρικός ιστός μετά από χρώση H+E (X10)



Εικ. 62.β: Παθολογικός νεφρικός ιστός μετά από χρώση H+E (X40)

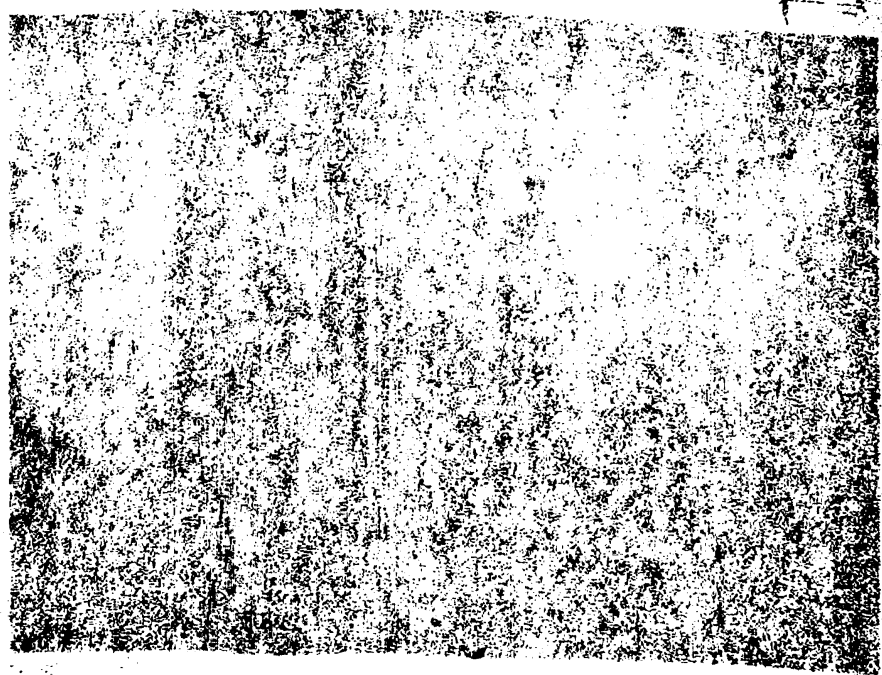


Εικ. 62.γ: Παθολογικός νεφρικός ιστός μετά από χρώση ροδαμίνης (X100)

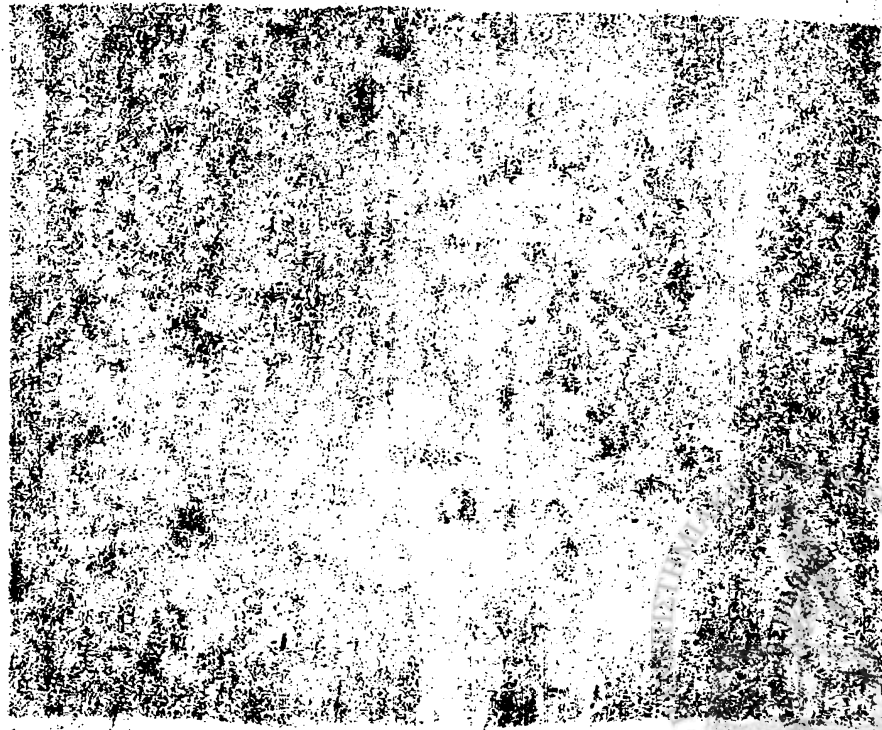
... ..
... ..
... ..
(X10)



... ..
... ..
... ..
(X40)



... ..
... ..
... ..
(X100)

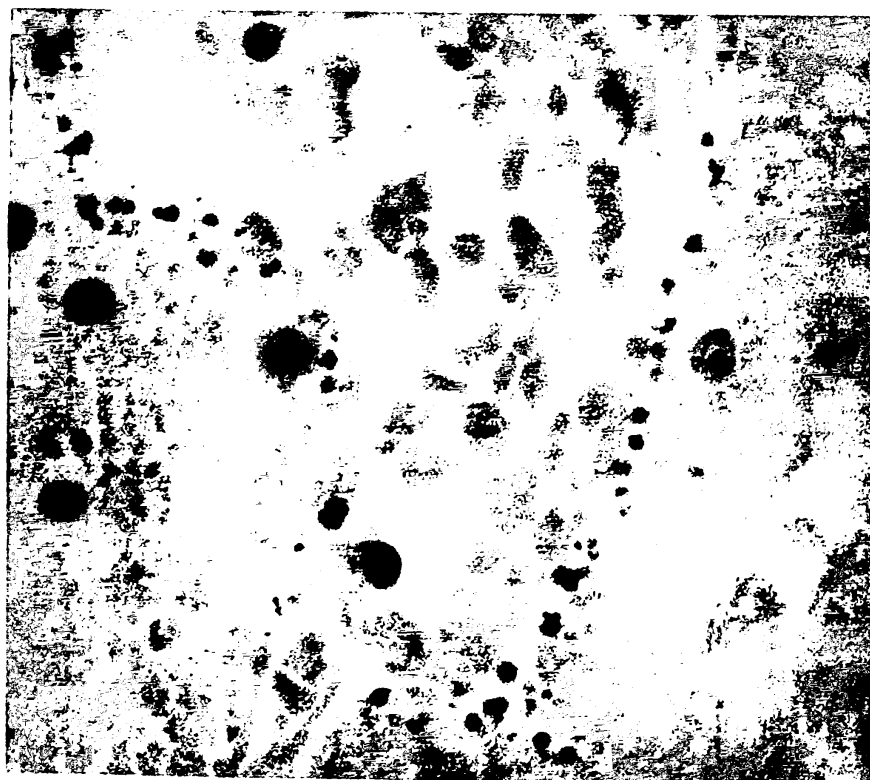


130

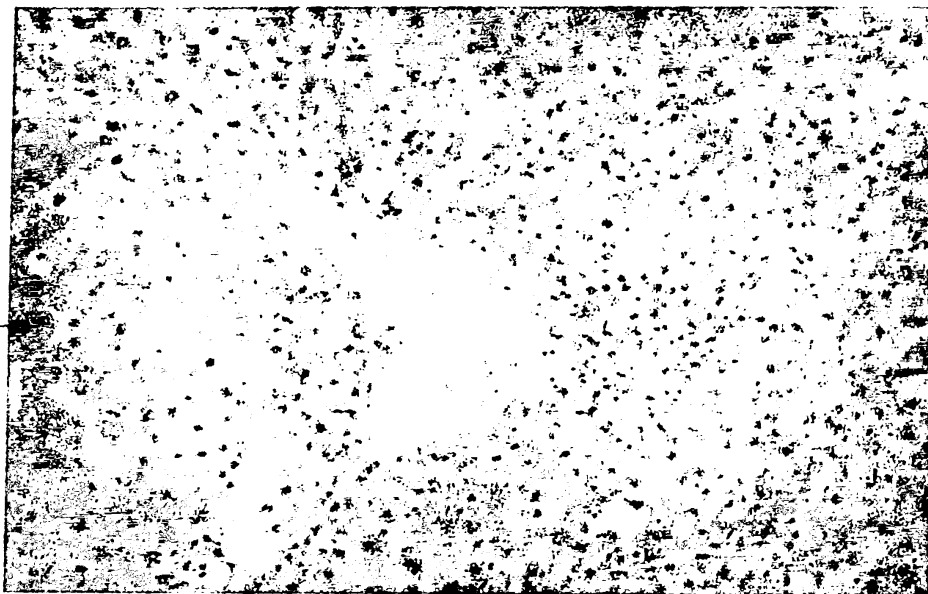
... ..
... ..
... ..



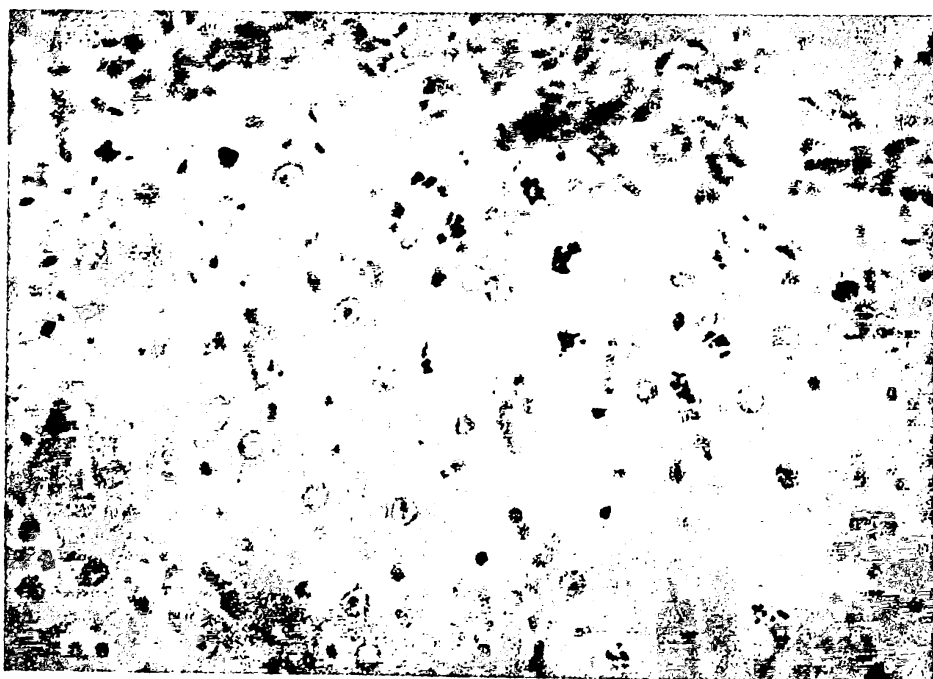
Εικ. 62.δ: Παθολογικός νεφρικός ιστός μετά από χρώση Η+Ε (Χ40)



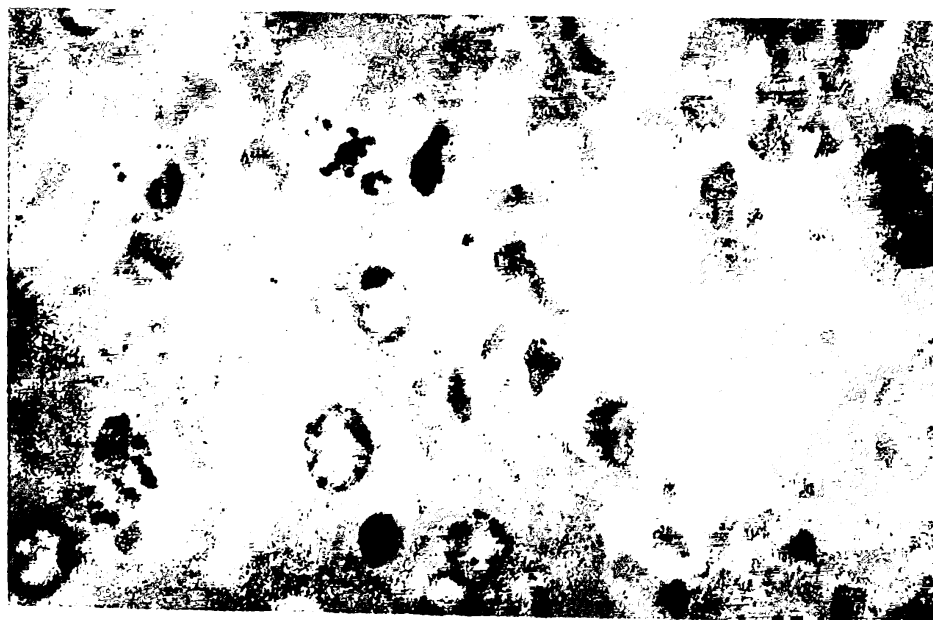
Εικ.62.ε: Παθολογικός νεφρικός ιστός μετά από χρώση ροδαμίνης (Χ100)



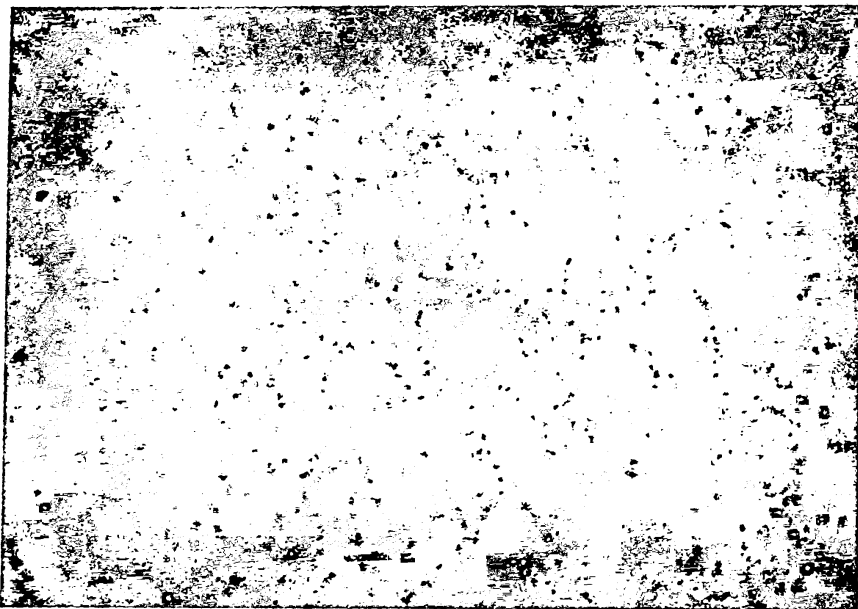
Εικ. 63.α: Φυσιολογικός ηπατ
ιστός μετά από χρώση (H+E)
(X10)



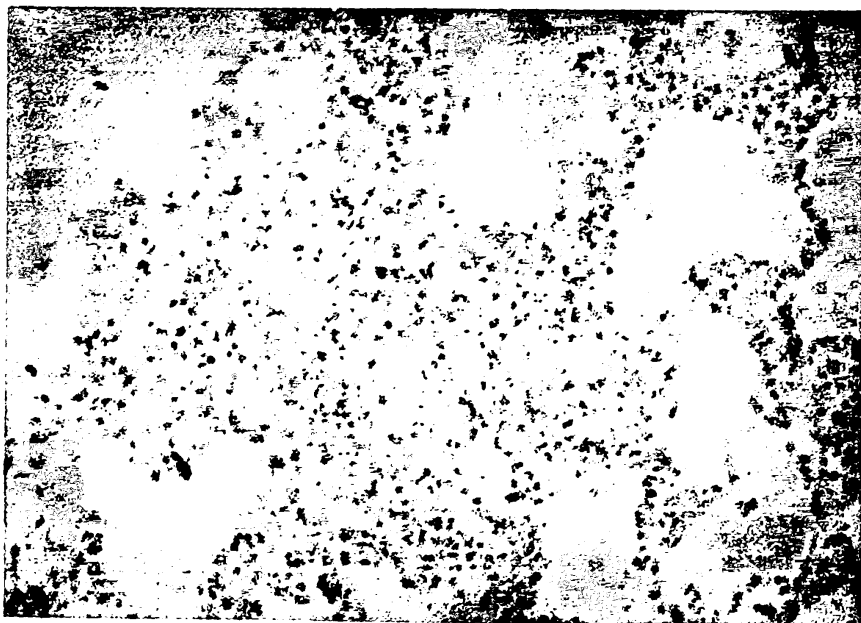
Εικ. 63.β: Παθολογικός ηπατικ
ιστός μετά από χρώση H+E
(X40)



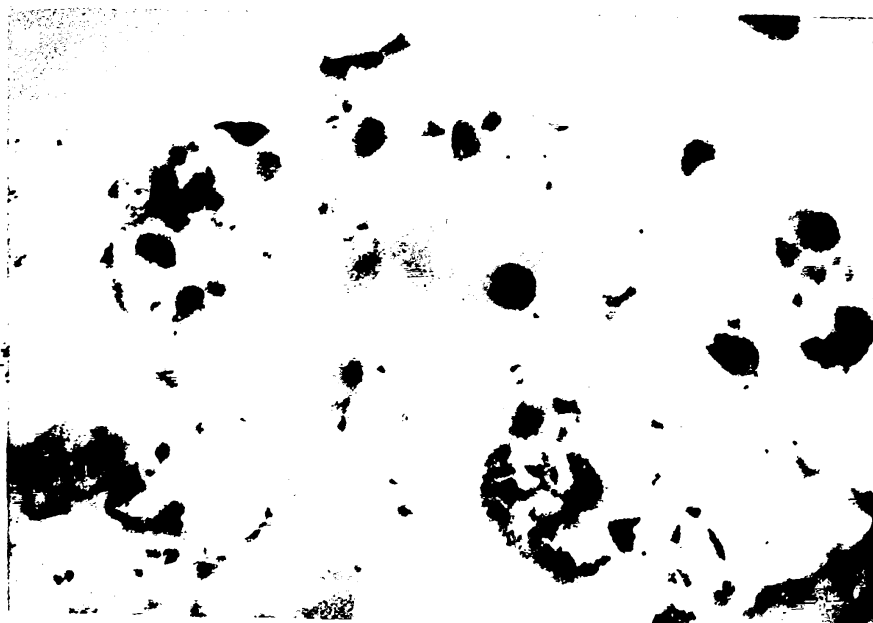
Εικ. 63.γ: Παθολογικός ηπατικός
ιστός μετά από χρώση ροδαμίνης
(X100)



Εικ. 64.α: Φυσιολογικός πνευμονικός ιστός μετά από χρώση Η+Ε (Χ10)



Εικ. 64.β: Παθολογικός πνευμονικός ιστός μετά από χρώση Η+Ε (Χ20)



Εικ. 64.γ: Παθολογικός πνευμονικός ιστός μετά από χρώση Ροδαμίνης (Χ100)



Εικ. 64.δ: Παθολογικός πνευμονικός ιστός μετά από χρώση Η+Ε (Χ40)



Εικ. 64.ε: Παθολογικός πνευμονικός ιστός μετά από χρώση ροδαμίνης (Χ100)

7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Μέταλλα και υγρό λύμα.

Το τελικό υγρό προϊόν του εργοστασίου βιολογικού καθαρισμού επεξεργασίας των αστικών αποβλήτων της πόλης των Ιωαννίνων προέρχεται από την ημερήσια επεξεργασία 15500m^3 /ημέρα (μέση ετήσια παροχή) οικιστικών λυμάτων. Όπως είναι γνωστό, τα τυπικά οικιστικά λύματα περιέχουν μεγάλες ποσότητες οργανικών και ανόργανων ενώσεων οι οποίες ως ένα μεγάλο βαθμό απομακρύνονται με τη δευτεροβάθμια επεξεργασία.

Η συγκέντρωση των μετάλλων Pb, Cd και Cu στο λύμα, το οποίο περιέχει και αρκετή ποσότητα αιωρούμενων σωματιδίων, σε σχέση με το νερό της ύδρευσης ήταν σημαντικά αυξημένη. Όσον αφορά τον Zn η περιεκτικότητά του στο λύμα και το νερό της ύδρευσης ήταν σχεδόν σε παρόμοια επίπεδα (πιν 18). Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω, η ύπαρξη μετάλλων στα λύματα προέρχεται από διάφορες ανθρωπογενείς πηγές όπως είναι τα απορρυπαντικά, τα μέταλλα που υπάρχουν στις σωληνώσεις ύδρευσης - αποχέτευσης, τα καύσιμα, τα προϊόντα οικιακής χρήσης, οι εκπλύσεις των δρόμων, η βροχή κ.ά. (Τεχν. Επιμελ. 1986). Ένα σημαντικό μέρος αυτών των μετάλλων δεν κατακρατείται στη λάσπη μέσω της διεργασίας της ενεργού ιλύος, δεν μπορεί να κροκιδωθεί και οδηγείται συνήθως συνδεδεμένο με οργανικά σύμπλοκα στην τελική υγρή εκροή.

Οι Keenan J. et al., 1984 και Brown HG. et al., 1973 αναφέρουν ότι η απόδοση μονάδων επεξεργασίας ενεργού ιλύος είναι της τάξης του 25-88% για μέταλλα όπως ο Cu και ο Zn ενώ τα Cd και Pb έχουν ποσοστά απομάκρυνσης πολύ μικρότερα, της τάξης των 11-65%, σε περίπτωση όμως που υπάρχει και είσοδος βιομηχανικών λυμάτων, οι συγκεντρώσεις αυτές μπορούν να πολλαπλασιαστούν και κατά συνέπεια να εμφανιστούν σε μεγαλύτερα ποσοστά στην τελική υγρή εκροή. Οι Jenkins et al. 1994 υποστήριξαν ότι η χαμηλή αποδοτικότητα στην απομάκρυνση μετάλλων από μονάδες επεξεργασίας αστικών λυμάτων μπορεί να οφείλεται α) στην παρουσία υψηλού ποσοστού οργανικών ενώσεων μεγάλου μοριακού βάρους οι οποίες απομακρύνονται δύσκολα και β) στην πιθανή αναστολή βιολογικών δραστηριοτήτων που προκαλούνται λόγω της παρουσίας αρκετών ποσοτήτων βαρέων μετάλλων (πιν. 14).

Η αποδοτικότητα απομάκρυνσης των μετάλλων στις μονάδες επεξεργασίας των λυμάτων ακολουθεί την παρακάτω σειρά $\text{Fe} > \text{Pb} > \text{Cu} > \text{Cd} > \text{Zn}$ και εξαρτάται από τον τρόπο σύνδεσης των μετάλλων με τα κροκιδώματα των βιολογικών φίλτρων ή με την ενεργό ιλύ.

Οι Gardiner et al., 1976 και Suzuki et al., 1979 υποστήριξαν ότι το Cd στα επεξεργασμένα λύματα είναι κύρια συνδεδεμένο με τις χουμικές ουσίες των αιωρούμενων σωματιδίων κατά 55%, το ποσοστό για τον Cu είναι 65%, ενώ για τον Pb το 97% είναι συνδεδεμένο με το κolloειδές και σωματιδιακό κλάσμα των εκροών (Laxen D. et al., 1981). Η υψηλή συγκέντρωση του Pb στις τελικές εκροές οφείλεται επίσης στη συγγενεία του, με τα ανόργανα συστατικά των λυμάτων όπως π.χ. με το υδροξείδιο του Fe.

Επίσης οι Brown et al., 1979 παρατήρησαν χαμηλή απομάκρυνση Cd από τις μονάδες επεξεργασίας και το απέδωσαν στη υψηλή διαλυτότητα των ιόντων Cd σε pH: 7-9, καθώς και μεγάλη διαθεσιμότητα άλλων μεταλλικών ιόντων που βρίσκονται σε αυξημένη συγκέντρωση και σχηματίζουν αδιάλυτα σύμπλοκα με τις λάσπες των λυμάτων π.χ. η σειρά διαλυτότητας για ορισμένα μέταλλα είναι $\text{Pb} < \text{Cu} < \text{Cd} < \text{Ni}$.

Η μακροχρόνια χορήγηση του λύματος του βιολογικού καθαρισμού ως πόσιμο νερό στις ομάδες των πειραματοζώων που έχουμε αναφέρει, είναι δυνατό να

προκαλέσει αρκετές βλάβες σ' αυτά, ιδιαίτερα στην περίπτωση των μετάλλων που απορροφούνται σημαντικά από τον οργανισμό των ζώων. Η εκροή του εργοστασίου βιολογικού καθαρισμού των Ιωαννίνων και ιδιαίτερα το ολικό κλάσμα σε σχέση με το νερό της ύδρευσης, περιέχει πενηντακονταπλάσιες ποσότητες Cu, 50% περίπου περισσότερο Zn, σχεδόν πενταπλάσια συγκέντρωση Pb και εικοσσαπλάσια σχεδόν συγκέντρωση Cd (πιν 18).

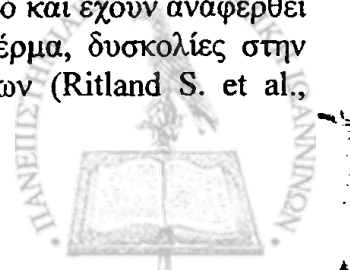
Συγκεκριμένα το Cd απορροφάται από το λεπτό έντερο με διάχυση και στη συνέχεια μεταφέρεται μέσω της πυλαίας κυκλοφορίας, στο ήπαρ και μέσω της συστηματικής κυκλοφορίας σε όλους τους ιστούς. Η συσσώρευση Cd στον οργανισμό έχει πολλές επιδράσεις, με πιο συχνή αυτή της βλάβης των σωληναρίων και των σπειραμάτων των νεφρών που οδηγεί σε πρωτεϊνουρία. Επίσης σημαντικές είναι οι βλάβες στο ήπαρ και τα οστά με εμφάνιση τοξαιμίας και ευθραυστότητας αντίστοιχα (Fergusson J., 1990).

Ο Pb είναι και αυτός ένα τοξικό μέταλλο και η χρόνια χορήγησή του επιφέρει σοβαρές βλάβες στον οργανισμό. Ο Pb λόγω του χαμηλού pH του στομάχου απορροφάται πολύ γρήγορα και οδηγείται στο αίμα, από εκεί συσσωρεύεται σε όλους τους ιστούς αλλά περισσότερο στα οστά, το ήπαρ, τα νεφρά, το αιμοποιητικό και τον εγκέφαλο. Είναι γνωστές οι ποικίλες τοξικές δράσεις του Pb με πρώτη εκδήλωση την αναστολή της βιοσύνθεσης της αίμης μέσω αναστολής της αφυδατάσης του δ-αμινολεβουλινικού οξέος (δ-ALAD). Επίσης μεγάλης διάρκειας έκθεση μπορεί να προκαλέσει χρόνια νεφροπάθεια και εγκεφαλοπάθεια. Σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ο Pb επιδρά στο νεφρικό σύστημα με εμφάνιση βλαβών στα εσπειραμένα σωληνάκια και προκαλεί μείωση της επαναπορρόφησης της γλυκόζης και των α - αμινοξέων και την εμφάνισή τους στα ούρα (Boeckx RL. et al., 1986).

Όσον αφορά τον Cu, είναι γνωστό ότι συμμετέχει σε πάρα πολλά ένζυμα και εμπλέκεται σε επίσης πολλές διεργασίες. Ο Cu εισέρχεται στην πυλαία κυκλοφορία συνδεδεμένος κύρια με τη λευκωματίνη ενώ η μεταφορά του στον οργανισμό γίνεται με τη σερουλοπλασμίνη. Η κύρια μορφή του Cu που μεταφέρεται μέσω του ορού είναι συνδεδεμένη με την αλβουμίνη (Simkin PA., 1976). Επιδράσεις από την περίσσεια της συγκέντρωσης Cu συνδέονται με γενετικά σύνδρομα συνήθως και είναι πολύ σοβαρές ενώ αντίθετα η έλλειψή του έχει σχετισθεί με καρδιακή ανεπάρκεια και ξαφνικό θάνατο λόγω καρδιακής βλάβης από μυϊκή ατροφία και ίνωση του μυοκαρδίου. Επιπλέον, η έλλειψη Cu επιδρά στο κεντρικό νευρικό σύστημα ιδιαίτερα κατά την περίοδο ανάπτυξης, επηρεάζει την μυελίνωση και προκαλεί μείωση των κατεχολαμινών (Boyd B., 1976, Morgan N. G. et al., 1983).

Ο Zn αποτελεί ένα από τα πιο απαραίτητα ιχνοστοιχεία στον οργανισμό και είναι το δεύτερο σε ποσότητα μετά τον Fe. Οι δράσεις του Zn είναι πάρα πολλές, έχει βρεθεί ότι συμμετέχει σαν συνένζυμο σε περισσότερα από 200 ένζυμα, συμμετέχει στην κατασκευή - δομή των νουκλεϊκών οξέων, στην κυτταρική διαίρεση και επίσης ως συστατικό των μεμβρανών των κυττάρων (π.χ. στα ερυθροκύτταρα), ασκώντας προστατευτική δράση (Werman M. et al., 1992). Μπορεί ακόμη να ενισχύσει την ένταση της καρδιακής συστολής (Kalfakakou V. et al. 1993) και να προστατεύει από τη δράση μεσολαβητών της φλεγμονής όπως ο PAF (Evangeliou A. et al., 1995).

Δεν έχουν αναφερθεί συχνά επιπτώσεις από περίσσεια Zn στον οργανισμό καθώς τα κύτταρα έχουν αναπτύξει πολύ αποτελεσματικούς μηχανισμούς ομοιόστασης που αποτρέπουν τη συσσώρευσή του και ενισχύουν την έξοδό του από αυτά. Αντίθετα, η έλλειψή του έχει συσχετισθεί με αρκετές βλάβες στον οργανισμό και έχουν αναφερθεί αρνητικές επιδράσεις στο ρυθμό ανάπτυξης, ανωμαλίες στο δέρμα, δυσκολίες στην κυτταρική αντιγραφή και αναστολή αντικαρκινικών παραγόντων (Ritland S. et al., 1985, Vallee B.I., 1993).



Επιβίωση των ζώων

Την μεγαλύτερη επιβάρυνση όσον αφορά την επιβίωση (εικ. 9) εμφάνισε η ομάδα Π1 δηλαδή η ομάδα με έκθεση σε αυτούσιο λύμα και $pH \sim 8.0$. Μικρότερη επιβάρυνση εμφανίζεται στην Π4 που έλαβε αυτούσιο λύμα αλλά με $pH < 7.0$, πιθανά οφείλεται στη μικρότερη διαλυτότητα του Cd λόγω μείωσης του pH. Η διαλυτότητα του Pb και του Cu είναι σχετικά μικρότερη σε $pH \sim 7.0$, ενώ αντίθετα σε όξινο pH τα Pb και Cu είναι πλέον ευδιάλυτα. Τα ευδιάλυτα μέταλλα είναι περισσότερο βιοδιαθέσιμα και συνεπώς δυνητικά περισσότερο τοξικά.

Η επιβίωση των ζώων στις ομάδες Π2 (1:5), Π3 (1:10) και Π5 (ελέγχου) είναι παρόμοια. Προφανώς η αραιώση του λύματος και των πιθανών τοξικών ή μολυσματικών περιεχομένων ουσιών ευνοεί την επιβίωση.

Ανοσο-αιμοποιητικό σύστημα

Οι πιθανές διαταραχές της λειτουργίας του συστήματος αυτού ελέγχθηκαν με την εκτίμηση των μεταβολών του αιματοκρίτη (Ht) του αριθμού των ερυθρών και των λευκών αιμοσφαιρίων και των κατηγοριών τους σε όλους τους χρόνους της έκθεσης. Παράγοντες οι οποίοι συσχετίστηκαν με την εναπόθεση (συσσώρευση) των μετάλλων στα οστά και κατά συνέπεια στο μυελό των οστών, στο σπλήνα και τα επίπεδά τους στον ορό των πειραματοζώων.

Πολλές μελέτες στο παρελθόν έχουν δείξει ότι η χρόνια έκθεση ενός οργανισμού ή και ανθρώπου σε ορισμένα φάρμακα καθώς και σε διάφορες χημικές ουσίες και τοξικούς παράγοντες μπορεί να προκαλέσει βλάβη τόσο στην παραγωγή όσο και στη διακίνηση του αίματος στον οργανισμό (Guyton, 1998). Ιδιαίτερα η χρόνια έκθεση σε βαρέα μέταλλα όπως το Cd και ο Pb, έχει αναφερθεί ότι προκαλεί πολλές και σοβαρές διαταραχές στο αιμοποιητικό σύστημα.

Τα πειραματικά μας δεδομένα ωστόσο δείχνουν ότι οι αιματολογικές παράμετροι που αφορούν τα ερυθρά αιμοσφαίρια δεν είναι σημαντικά επηρεασμένες (πιν. 19) και δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές τόσο μεταξύ των ομάδων όσο και μεταξύ των διαφόρων πειραματικών περιόδων, ενώ αντίθετα οι διαταραχές που υφίστανται τα λευκά αιμοσφαίρια είναι σημαντικότερες. Ο ρόλος των λευκών αιμοσφαιρίων είναι να παρέχουν ταχεία και δυναμική άμυνα εναντίον οποιουδήποτε λοιμώδους παράγοντα. Σε περίπτωση σοβαρών λοιμώξεων των ιστών, η ολική διάρκεια ζωής τους περιορίζεται σε λίγες ώρες. Ιδιαίτερα τα κοκκιοκύτταρα (ουδετερόφιλα, ηωσινόφιλα και τα βασεόφιλα) που έχουν την ικανότητα να 'αναζητούν και να καταστρέφουν οποιονδήποτε ξένο εισβολέα' (διεργασία φαγοκύτωσης) μεταφέρονται ταχύτατα στην περιοχή της λοίμωξης, επιτελούν τη λειτουργία τους και κατά τη διεργασία αυτή καταστρέφονται και τα ίδια (Guyton, 1998).

Η χρόνια έκθεση των ζώων στο επεξεργασμένο λύμα του βιολογικού καθαρισμού προκάλεσε μείωση στον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων (εικ. 10). Η διαφορά στον πληθυσμό των λευκοκυττάρων μεταξύ των ομάδων Π1(αυτούσιο λύμα) και Π5(ελέγχου) είναι σημαντική καθόλη τη διάρκεια του πειράματος. Ηπιότερες μεταβολές παρουσιάζονται στην ομάδα Π4($pH: 7.0$) (Π4 – Π5: $p > 0.05$) σε όλη σχεδόν τη διάρκεια του πειράματος, αλλά την τελευταία περίοδο πειραματισμού (18-24 μήνες) υπάρχει μια σημαντική μείωση του αριθμού των λευκοκυττάρων για αυτήν την ομάδα που φτάνει στα επίπεδα της ομάδας Π1(αυτούσιο λύμα) ($p = 0.01$ μεταξύ Π4 – Π5).

Εξετάζοντας τις επιμέρους υποομάδες του λευκοκυτταρικού τύπου παρατηρούμε ότι η μείωση των λευκών αιμοσφαιρίων οφείλεται κυρίως στην ελάττωση του πληθυσμού των λεμφοκυττάρων (εικ. 11). Σύμφωνα με την βιβλιογραφία (Ringler

DH. et al., 1979) τα Wistar rats έχουν από 6000 – 18000 λευκοκύτταρα ανά μl που κατανέμονται ανά κατηγορία ως εξής: το 70-80% είναι λεμφοκύτταρα, τα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα κυμαίνονται από 14-20%, τα μονοκύτταρα μπορούν να φτάσουν έως το 6%, τα ηωσινόφιλα έως 1-4% ενώ σπανίως υπάρχουν βασεόφιλα. Τα λεμφοκύτταρα αποτελούνται από αρκετές υποκατηγορίες (όπως Β και Τ λεμφοκύτταρα) και η κύρια σημασία τους σχετίζεται με την παραγωγή αντισωμάτων καθώς και τη δημιουργία και εξέλιξη αρκετών άλλων ανοσολογικών και γενικότερα αμυντικών αντιδράσεων (Αποστολάκης I.M., 1993).

Είναι πιθανό η μείωση αυτή στον αριθμό των λευκοκυττάρων να οφείλεται σε βλάβη των αιμοποιητικών κυττάρων του σπλήνα και του μυελού των οστών λόγω της χρόνιας έκθεσης σε βλαπτικές ουσίες και μέταλλα που περιέχονται στο λύμα του βιολογικού καθαρισμού. Αρκετοί ερευνητές έχουν αναφέρει ότι η έκθεση σε βαρέα μέταλλα και ιδιαίτερα σε Cd και Pb μπορεί να έχει βλαβερές επιδράσεις στο αιμοποιητικό σύστημα.

Το Cd έχει τοξική δράση ακόμη και σε μικρές σχετικά ποσότητες και από πειράματα σε επίμυες έχει δείχθει ότι προκαλεί οξειδωτικό στρες και επακόλουθες βλάβες στα λευκοκύτταρα και ερυθροκύτταρα (Sarkar S. et al., 1998). Οι ίδιοι ερευνητές έδειξαν ότι το Cd μειώνει την παραγωγή της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD), της καταλάσης και της γλουταθειόνης που αποτελούν μηχανισμούς άμυνας των κυττάρων σε διάφορες καταστάσεις στρες. Επίσης οι elAzzoufi et al., 1994 σε μια in vivo μελέτη έδειξαν ότι η έκθεση σε Cd προκαλεί απόπτωση στα λεμφοκύτταρα της CEM-12 κυτταρικής σειράς ανθρώπινων Τ-κύτταρων μέσω συμπύκνωσης της χρωματίνης (chromatin) και θρυμματισμού του DNA. Το Cd προκαλεί τοξικότητα ανάλογη τόσο της συγκέντρωσης όσο και της διάρκειας έκθεσης. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις το Cd προκαλεί απόπτωση ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις νέκρωση. Οι Tsangaris et al., 1998 μελέτησαν την έκθεση σε Cd 3 σειρών ανθρώπινων κυττάρων, την CCRF-CEM που είναι Τ- κύτταρα, τα κύτταρα Raji που είναι Β-κύτταρα και τη σειρά Molt-3 που είναι λεμφοβλάστες. Παρατήρησαν ότι η αποπτωτική δράση του Cd είναι δόσοεξαρτώμενη και πιο ευαίσθητα εμφανίζονται τα κύτταρα Raji, πράγμα που σημαίνει ότι η επίδραση του Cd έχει άμεση σχέση με την ομαλή ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό του ανοσοποιητικού συστήματος. Σημαντικό και ενδεικτικό ρόλο της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος διαδραματίζει ο σπλήνας. Ο σπλήνας είναι ένα από τα κύρια όργανα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος, τα κύτταρα του οποίου έχουν ως λειτουργία να φαγοκυτώνουν ξένα σωματίδια, όπως π.χ. κοκκία κολλοειδών χρωστικών, πυριτικού οξέος, άνθρακα και μικροοργανισμούς. Επίσης στο σπλήνα γίνεται η λειτουργία καταβολισμού των κυττάρων του αιμοποιητικού με τελική καταστροφή των φθειρόμενων ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων, καθώς και γενικότερα κυττάρων με βλάβη ή ελαττωμένη ζωτικότητα. Σημαντικός είναι ο λειτουργικός ρόλος του σπλήνα σε αρκετούς ανοσοποιητικούς μηχανισμούς δράσης και ειδικότερα στον πολλαπλασιασμό των Τ-λεμφοκυττάρων (Guyton, 1998). Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 22, 23) φαίνεται ότι τόσο το Cd όσο και ο Pb εμφανίζουν σημαντική συσσώρευση στον σπληνικό ιστό περί το τέλος της περιόδου έκθεσης (p: 0.016, p: 0.05)

Ορισμένοι ερευνητές έδειξαν ότι η in vivo χορήγηση Cd σε πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα και λεμφοκύτταρα του σπλήνα επηρεάζει σημαντικά τη λειτουργία τους καθώς και τη βιωσιμότητά τους. Ειδικότερα παρατηρείται μείωση στην ικανότητα πολλαπλασιασμού των σπληνικών λεμφοκυττάρων λόγω μείωσης της κονκαβαλίνης-Α που συμμετέχει στη μίτωση των Τ- κυττάρων και αύξηση των κυτοκινών που έχουν αντιφλεγμονώδη δράση και μπορούν να επηρεάσουν τη δράση των λεμφοκυττάρων και των ουδετερόφιλων (Kataganovski M. et al., 1999) Το Cd μπορεί και αντικαθιστά άλλα

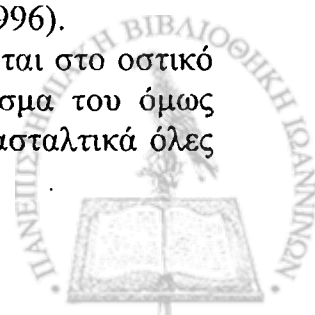
απαραίτητα ιχνοστοιχεία όπως είναι ο Zn, ο οποίος αποτελεί βασικό στοιχείο αρκετών πρωτεϊνών που έχουν ανοσολογική δραστηριότητα και η αντικατάστασή του από το Cd μπορεί να μειώσει σημαντικά ή και να απενεργοποιήσει αυτήν τη δραστηριότητα (Wellington N. et al., 1998). Απ' ευθείας χορήγηση CdCl₂ σε καλλιέργειες λεμφοκυττάρων προκαλεί επαγωγή των μεταλλοθειονινών στα επίπεδα του RNA, απενεργοποίηση των νουκλεοτιδίων καθώς και βλάβες στο DNA (Stennard FA. et al., 1995). Η χρόνια χορήγηση λύματος του βιολογικού καθαρισμού στα ζώα του πειράματός μας προκάλεσε μια σημαντική συσσώρευση της συγκέντρωσης Cd στο σπλήνα (εικ. 22) για την ομάδα Π1 (αυτούσιο λύμα), καθόλη τη διάρκεια έκθεσης. Ακόμη, σημαντική αύξηση του περιεχόμενου Cd του σπλήνα υπήρχε και για την ομάδα Π4 (pH:7.0) ιδιαίτερα για την περίοδο 0-12 μήνες έκθεσης, ενώ για τις ομάδες Π2(1:5), Π3(1:10) και Π5(ελέγχου) δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές κατά την διάρκεια του πειράματος.

• Αρκετοί ερευνητές έχουν δείξει ότι η συσσώρευση Cd στο σπλήνα επηρεάζει άμεσα τη λειτουργία του. Οι Min KS. et al., 1995 έδειξαν ότι η έγχυση CdCl₂ σε ποντίκια προκαλεί σημαντική αύξηση του Cd στο σπλήνα και το ήπαρ καθώς και αύξηση των μεταλλοθειονινών που συνδέονται με το Cd. Η αύξηση αυτή των Cd-μεταλλοθειονινών του σπλήνα αποτελεί πηγή Cd για τα ώριμα ερυθροκύτταρα και κατά συνέπεια μπορεί να επηρεάσει την κανονική ερυθροποίηση. Χορήγηση μικρής συγκέντρωσης Cd (0.6-1.0 μM) σε καλλιέργειες σπληνικών λεμφοκυττάρων ποντικών C57BL/6 προκαλεί σημαντική κυτοτοξικότητα και μειώνει τη λεμφοβλαστική τους ικανότητα. Άρα η επίδραση του Cd στα διάφορα στάδια ανάπτυξης των λεμφοκυττάρων σχετίζεται σημαντικά με τη μείωση της βιωσιμότητάς τους καθώς και με τη μείωση των ενεργών λεμφοβλαστών (Payette Y. et al., 1995).

Οι Yamano T. et al. 1998 ανέφεραν ότι οι επιδράσεις του Cd, μετά από έγχυση CdCl₂ σε ποντίκια, στο σπλήνα και ειδικότερα στο ανοσοποιητικό σύστημα ήταν μεγαλύτερες με την αύξηση της ηλικίας των ζώων. Η έγχυση CdCl₂ σε ποντίκια προκάλεσε μείωση της ορμονικής και κυτταρικής ανοσίας μέσω απευθείας αύξησης (p<0.05) των επιπέδων της κορτικοστερόνης και αλδοστερόνης του αίματος (Lall SB. et al., 1999).

Ένα άλλο στοιχείο που μπορεί να επηρεάσει σημαντικά το αιμοποιητικό σύστημα είναι ο Pb. Οι Bincoletto et al., 1996 ανέφεραν ότι ο Pb καταστέλλει τον πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη των κυττάρων του μυελού των οστών καθώς και την ικανότητα σχηματισμού αποικιών (CSA), ενώ δεν έχει επίδραση στους παράγοντες ανάπτυξης του αιμοποιητικού στον ορό. Οι επιπτώσεις αυτές του Pb ήταν σοβαρότερες και μη αντιστρεπτές σε ποντίκια που επιμολύνθηκαν με *Listeria monocytogenes*. Οι ίδιοι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η δράση του Pb είναι άμεση στα μυελοποιητικά κύτταρα και ότι η τοξικότητά του ενισχύεται παρουσία μικροβιακών λοιμώξεων λόγω μειωμένης αντίστασης του οργανισμού. Από τα αποτελέσματά μας είναι εμφανές ότι ο Pb και το Cd εμφανίζουν στα οστά πολύ υψηλές συγκεντρώσεις, τουλάχιστον δεκαπλάσιες από ότι σε άλλους ιστούς. Ιδιαίτερα οι ομάδες Π1 και Π4 εμφανίζουν τη μεγαλύτερη επιβάρυνση προς το τέλος των 24 μηνών χορήγησης του λύματος (εικ. 54, 55) (p: 0.015, p: 0.002). Παρά τη χλωρίωση που υφίσταται το τελικό λύμα είναι πολύ πιθανό λοιμογόνοι μικροοργανισμοί να συμβάλλουν στη λευκοκυτταρική μείωση συνεργώντας με τα μέταλλα (Bincoletto et al., 1996).

Είναι γνωστό ότι το μεγαλύτερο μέρος του Pb στα οστά εισέρχεται στο οστικό πλέγμα υποκαθιστώντας και εκδιώκοντας το Ca, ένα σημαντικό κλάσμα του όμως επιδρά στο μυελό και όσο αυτός είναι ενεργός (ερυθρός) επηρεάζει ανασταλτικά όλες τις παραγόμενες κυτταρικές σειρές.



Άλλοι ερευνητές έχουν δείξει ότι ο Pb μπορεί να επηρεάσει τη δράση των T-κυττάρων που έχουν ανοσοποιητικό ρόλο και συγκεκριμένα τη διαφοροποίηση των πρόδρομων Th κυττάρων με απευθείας αναστολή των κυττάρων Th1 και αντίστοιχη διέγερση των Th2 (Heo Y. et al., 1998). Σε ένα παρόμοιο πείραμα οι Miller TE. et al., 1998, παρατήρησαν ότι υπήρχαν μη αντιστρεπτές αλλαγές στο ανοσοποιητικό σύστημα νεογνών επίμυων στις μητέρες των οποίων χορηγούνταν Pb μέσω του πόσιμου νερού της τάξης των 250 ppm.

Έχει δειχθεί ότι ακόμη και μικρά επίπεδα Pb μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τη λειτουργία των μακροφάγων του σπλήνα και κατά συνέπεια εμποδίζεται η εξουδετέρωση των παθογόνων που εισέρχονται στον οργανισμό. Σε καλλιέργειες σπληνοκυττάρων που περιέχουν μακροφάγα, λεμφοκύτταρα και άλλους τύπους κυττάρων, έχει παρατηρηθεί ότι μικρά επίπεδα Pb επηρεάζουν την παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου (NO) των μακροφάγων που προκαλείται από τη γ-ιντερφερόνη και τον παράγοντα νέκρωσης όγκου A (TNF-A) (Tian L. et al., 1995). Οι Kanematsu M. et al., 1996 έδειξαν ότι ο Pb μπορεί και αναστέλλει την παραγωγή NO στην κυτταρική σειρά ποντικών RAW264, μακροφάγων τα οποία παράγουν κυτοκίνες. Η αναστολή αυτή προέρχεται από την επίδραση του Pb στη συνθετάση του NO σε επίπεδο mRNA με τελικές επιπτώσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα.

Επίσης η έλλειψη Cu και Zn στον οργανισμό είναι δυνατό να προκαλέσει μείωση στον πληθυσμό των λευκοκυττάρων βοηθώντας έτσι την εξάπλωση μιας λοίμωξης. Οι Cerone et al., 1998 παρατήρησαν αύξηση του πληθυσμού των μονοκυττάρων, σημαντική μείωση των B-λεμφοκυττάρων καθώς και μειωμένη δράση των ουδετερόφιλων σε θηλυκές αγελάδες στις οποίες δημιουργήθηκε τεχνητά έλλειψη Cu. Άλλοι ερευνητές ανέφεραν ότι η έλλειψη Cu σε ποντίκια προκαλεί μείωση περίπου στο μισό του πληθυσμού των λεμφοκυττάρων και μικρή αύξηση στον αριθμό των ουδετερόφιλων, αλλά παρατηρήθηκε επίσης ότι και στους δύο τύπους κυττάρων τα κύτταρα ήταν πιο νεαρά και καθυστερούσε η ωρίμανσή τους λόγω της έλλειψης Cu (Karimbakas J. et al., 1998).

Οι συγκεντρώσεις Cu στο σπλήνα (εικ. 24) δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφοροποιήσεις τόσο μεταξύ των ομάδων όσο και κατά τη διάρκεια της χρονικής έκθεσης. Αρκετοί ερευνητές έχουν μελετήσει την επίδραση του Cu στα κύτταρα του σπλήνα όπου ειδικότερα ο αριθμός των λευκοκυττάρων παρουσιάζεται μειωμένος στους επίμυες που είχαν έλλειψη Cu. Σε καλλιέργειες σπληνικών κυττάρων φάνηκε ότι η μειωμένη λήψη Cu προκαλεί μείωση της ιντερλευκίνης-2 καθώς και βλάβες στη σύνθεση DNA και τον πολλαπλασιασμό των T-κυττάρων (Bala S. et al., Percival SS., 1998). Οι *in vitro* μειωμένες δραστηριότητες των T-κυττάρων και των ουδετερόφιλων των επίμυων επανέρχονταν στα κανονικά επίπεδα ύστερα από χορήγηση επαρκούς ποσότητας Cu στη διαίτα τους (Hopkins RG. et al., 1995).

Παρόμοια με το Cu εμφανίζεται και η συμπεριφορά του Zn στο σπλήνα όπου δεν εμφανίζονται σημαντικές διαφορές στις συγκεντρώσεις μεταξύ των ομάδων στις διάφορες χρονικές περιόδους του πειράματος (εικ. 25).

Ο Zn έχει σοβαρές επιπτώσεις στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και μελέτες *in vitro* και *in vivo* έδειξαν ότι τόσο η επίκτητη ανοσία όσο και η λειτουργία και η ωρίμανση των λεμφοκυττάρων και μονοκυττάρων εξαρτώνται σε πολύ μεγάλο βαθμό από την συγκέντρωση Zn (Guyton, 1998). Η έλλειψη του μετάλλου προκαλεί μείωση στην ανοσολογική αντίδραση, μείωση στον αριθμό των T-κυττάρων καθώς και αλλαγή της λειτουργίας των μακροφάγων στο σπλήνα πειραματοζώων (vanRig et al., 1990).

Επίσης ο Zn αλληλεπιδρά με βασικές πρωτεΐνες του ορού που έχουν ανοσολογική δράση, με συστατικά μετατροπής σημάτων και συμμετέχει σε λειτουργίες

της μεμβράνης των κυττάρων (Wellington N. et al., 1998). Η έλλειψη Zn σχετίζεται με μείωση του αριθμού των T – λεμφοκυττάρων καθώς και με διαταραχές στη λειτουργία των μακροφάγων, σημαντική είναι επίσης η μείωση στην ενεργοποίηση του ενδογενή μεσολαβητή των λευκοκυττάρων (LEM) που είναι ένας παράγοντας άμεσης αντίδρασης στην φλεγμονή (Vallee BL. et al., 1993).

Επίσης οι Lepage LM. et al., 1999 έδειξαν ότι η έλλειψη Zn αποτελεί αιτία για αρκετά σύνδρομα που παρουσιάζονται ενώ συμβάλλει στη λεμφοπενία και απόπτωση των κυττάρων του ανοσοποιητικού. Η χορήγηση Zn έχει δείχθει ότι έχει ανοσοθεραπευτική δράση ιδιαίτερα όταν ο οργανισμός είναι μεγάλης ηλικίας και είναι καταπονημένος από καταστάσεις έντασης (stress) (Saha A.R. et al., 1995, Verbanac D. et al., 1998).

Συμπερασματικά από τη μελέτη των επιδράσεων των μετάλλων στο σύστημα αυτό προέκυψε ότι οι ομάδες Π1 και Π4 παρουσίασαν στατιστικά σημαντική μείωση ($p < 0.01$) των λεμφοκυττάρων σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου Π5, περί το τέλος των 24^{ων} μηνών έκθεσης. Ενώ το Cd και ο Pb, εμφάνισαν σημαντική συσσώρευση στον ιστό του σπλήνα την ίδια περίοδο ($p < 0.02$, $p < 0.05$ αντίστοιχα) στην ομάδα Π1 και επίσης την περίοδο 0-12 μήνες στην ομάδα Π4. Η άθροιση των μετάλλων στο σπλήνα και το μυελό πιθανά επηρεάζει τον πληθυσμό αλλά και την λειτουργικότητα των ανοσοκυττάρων με αποτέλεσμα την μεγαλύτερη ευαισθησία των ζώων σε άλλους τοξικούς ή λοιμωγόνους παράγοντες του λύματος.

Ουρογεννητικό σύστημα

Οι επιπτώσεις των μετάλλων των διαφόρων τύπων του λύματος στο σύστημα αυτό μελετήθηκε κυρίως από τις μεταβολές βιοχημικών παραμέτρων στα ούρα 24ώρου των ζώων των διαφόρων ομάδων με έμφαση στην λευκωματουρία, γλυκοζουρία, το ειδικό βάρος, την αιματουρία αλλά και τα επίπεδα κρεατινίνης του ορού.

Τα παραπάνω συσχετίστηκαν με το βαθμό συσσώρευσης των μετάλλων στα όργανα του συστήματος νεφρούς, κύστες και όρχεις καθώς και τις παθολογοανατομικές αλλοιώσεις και την ιστοχημική ανίχνευση μετάλλων στους νεφρούς.

Η διατήρηση σχετικά σταθερού όγκου και σταθερής σύστασης των υγρών του σώματος αποτελεί σημαντική ομοιοστατική ανάγκη του οργανισμού. Όργανα κυρίως υπεύθυνα γι' αυτήν τη λειτουργία είναι οι νεφροί. Ιδιαίτερα στα εγγύς και άπω εσπειραμένα σωληνάρια και στην αγκύλη του Henle του νεφρώνα γίνεται επαναρόφηση του μεγαλύτερου μέρους (65-67%) του ύδατος, του Na^+ του Cl^- και του K^+ και επίσης γίνεται επαναρόφηση της γλυκόζης, των αμινοξέων και των HCO_3^- ιόντων, τα οποία απεκκρίνονται από τον οργανισμό στο αρχικό διήθημα των ούρων και επαναροφούνται στον οργανισμό κατά μήκος των ουροφόρων σωληναρίων (Guyton, 1998).

Τα βαρέα μέταλλα στα εγγύς εσπειραμένα σωληνάρια ασκούν τοξική δράση και μειώνουν την ικανότητα τους να επαναροφούν χρήσιμες για τον οργανισμό ουσίες (νερό, γλυκόζη, αμινοξέα) και να αποβάλλουν τις άχρηστες (κρεατινίνη, ουρία). Ειδικότερα η οξεία ή χρόνια έκθεση σε βαρέα μέταλλα όπως π.χ. Pb, Cd, Hg μπορεί να προκαλέσει καταστροφή των επιθηλιακών κυττάρων των ουροφόρων σωληναρίων, νέκρωση των σωληναρίων, μείωση του αριθμού των λειτουργικών νεφρώνων και τελικά χρόνια νεφρική ανεπάρκεια.

Η αύξηση της συγκέντρωσης κρεατινίνης στον ορό των ζώων της ομάδας Π1 μπορεί να οφείλεται σε βλάβη των ουροφόρων σωληναρίων του νεφρού που είναι δυνατόν να αποδοθεί είτε σε ανάπτυξη κάποιας λοίμωξης είτε σε δηλητηρίαση από τα

περιεχόμενα βαρέα μέταλλα του λύματος του βιολογικού καθαρισμού. Ενισχυτικά της άποψης αυτής αποτελούν τα παθολογοανατομικά ευρήματα τα οποία επισημαίνουν σημαντικές εκφυλίσεις των νεφρικών σωληναρίων και των αγγειωδών σπειραμάτων που μπορούν να οδηγήσουν μέχρι και σε νεφρική ανεπάρκεια λόγω των πυκνών εναποθέσεων μετάλλων και κυρίως χαλκού (εικ. 62).

Πολλοί ερευνητές έχουν δείξει ότι η χρόνια συσσώρευση μετάλλων κυρίως Cd και Pb προκαλεί βλάβες στους νεφρώνες που συνοδεύονται από αύξηση των συγκεντρώσεων κρεατινίνης στον ορό του αίματος (Novelli EL et al., 1998, Moon CS. et al., 1999, Kim R. et al., 1996, Oner G., et al., 1996).

Οι επιπτώσεις του Καδμίου (Cd)

Έχει δειχθεί από πολλούς ερευνητές ότι η συγκέντρωση των μετάλλων στα ούρα αποτελεί βιολογικό δείκτη της συγκέντρωσης αυτών στο αίμα και γενικότερα του επιπέδου τους στον οργανισμό. Ειδικότερα για το Cd η απέκκρισή του από τα ούρα αποτελεί έναν έμμεσο βιολογικό δείκτη της συσσώρευσης Cd στους νεφρούς. Επίσης, διαφόρων ειδών βιοδείκτες που αφορούν την ανίχνευση των νεφροτοξικών επιδράσεων του Cd σε διάφορες περιοχές του νεφρού μελετώνται σε συνάρτηση με το περιεχόμενο Cd των ούρων (Roels HA. et al., 1999, Moon CS. et al., 1999).

Η χρόνια έκθεση σε μικρές συγκεντρώσεις Cd προκαλεί διαταραχές στον οργανισμό όπως αύξηση της αρτηριακής πίεσης λόγω κατακράτησης του Na^+ καθώς και λόγω απ' ευθείας επίδραση του Cd στα αγγεία. Επίσης αναπτύσσεται νεφρική δυσλειτουργία που χαρακτηρίζεται από σωληναριακή πρωτεϊνουρία, γλυκοζουρία και αμινοοξουρία (Smith DR. et al., 1998). Οι Roels HA. et al., 1999 ανέφεραν ότι οι συγκεντρώσεις Cd των ούρων ήταν αυξημένες σε κατοίκους περιοχών που ήταν ρυπασμένες με Cd σε σχέση με τα ούρα ανθρώπων από μη ρυπασμένες περιοχές.

Από τα αποτελέσματά μας φαίνεται ότι (εικ. 13) οι ομάδες Π1(αυτούσιο) και Π4 (pH:7.0) παρουσιάζουν τις μεγαλύτερες απεκκρίσεις Cd στα ούρα 24ωρου για όλη τη χρονική διάρκεια του πειράματος γεγονός που φανερώνει ότι τα ζώα των ομάδων αυτών και ιδιαίτερα της Π1 αναμένεται να εμφανίζουν συσσώρευση του μετάλλου στους νεφρούς.

A) Στους νεφρούς: Από τα αποτελέσματά μας διαπιστώνεται ότι η ομάδα Π1 παρουσιάζει τη μεγαλύτερη συσσώρευση Cd καθόλη την πειραματική διάρκεια. Ο νεφρός αποτελεί το κυριότερο όργανο στόχο του Cd τόσο σε οξεία όσο και σε μακροχρόνια έκθεση. Η χρόνια χορήγηση Cd στο πόσιμο νερό επίμυων προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης Cd στους νεφρούς και το ήπαρ ζώων (Kamiyama et al. 1995).

Το συσσωρευμένο Cd στους νεφρούς προκαλεί βλάβες στη πειραματική διήθηση με αύξηση της απέκκρισης πρωτεϊνών μικρού μοριακού βάρους (Friberg et al., 1984). Η χορήγηση διαλυμάτων Cd μέσω του πόσιμου νερού έδειξε ότι αυτό συσσωρεύεται στο νεφρό και σε μοριακό επίπεδο προξενεί βλάβες στο DNA, αντικατάσταση βασικών ιχνοστοιχείων όπως Cu και Zn από το Cd, μείωση των επιπέδων της ενδοκυττάριας γλουταθειόνης και αύξηση της λιπιδικής υπεροξειδωσης (Sanhir R. et al., 1995).

Από τα παθολογοανατομικά μας ευρήματα (εικ. 62 β,γ,δ,ε) φαίνεται πως οι εναποθέσεις σωματιδίων (μετάλλων) σχετίζονται με βαρύτερες εκφυλίσεις των νεφρικών σωληναρίων και των αγγειωδών σπειραμάτων με φλεγμονώδη αντίδραση του ιστού και μάλιστα οι αλλοιώσεις αυτές εμφανίζονται κυρίως μετά τους 12 μήνες έκθεσης. Η βαρύτητά των αλλοιώσεων είναι ιδιαίτερα εκσεσημασμένη κατά τον 18^ο

μήνα προσβολής του ιστού και πιθανότατα αποτέλεσε και αιτία θανάτου για τα ζώα. Έτσι η χρόνια έκθεση σε πόσιμο νερό με μέταλλα σχετίζεται με την εναπόθεση των μετάλλων στους ευαίσθητους ιστούς όπως οι νεφροί, μέσω των οποίων απεκκρίνεται άλλωστε κυρίως το Cd αλλά και ο Pb. Η εναπόθεση αυτή, σχετίζεται με τις ιστολογικές βλάβες που πιθανότατα οδήγησαν τα ζώα στο θάνατο. Τέλος οι εναποθέσεις των μετάλλων σχετίζονται ιδιαίτερα ως προς την βαρύτητα με την επιβάρυνση του νερού σε μέταλλα, όπως αυτή της ομάδας Π1. Ζώα της ομάδας Π4 που επίσης απεβίωσαν και που βρισκόταν στις ίδιες συνθήκες πειραματισμού με την Π1 με μόνη διαφορά το pH του πόσιμου νερού (pH~7.0) έχουν υποστεί μικρότερες βλάβες. Αυτό είναι εμφανές και από το γεγονός ότι η κρεατινίνη ορού στην ομάδα αυτή δεν παρουσίασε σημαντική αύξηση καθ' όλη τη διάρκεια της έκθεσης των πειραματοζώων σε αντίθεση με τα ζώα της ομάδας Π1. Έχει αναφερθεί ότι η υπάρχει σημαντική επίδραση στην κάθαρση κρεατινίνης όταν η ανατομική του νεφρού είναι σε μεγάλο ποσοστό κατεστραμμένη (Oner G. et al., 1996, Moon CS. et al., 1999, Roels HA. et al., 1999).

B) Στην ουροδόχο κύστη: Η συσσώρευση Cd παρουσιάστηκε σε μεγαλύτερα επίπεδα για τις ομάδες Π1(αυτούσιο λύμα) και Π4(pH:7.0) καθόλη τη διάρκεια του πειράματος (εικ. 30). Την τελευταία περίοδο πειραματισμού (24 μήνες) η ομάδα Π1 είχε τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις Cd και υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων Π1 – Π5 ($p < 0.05$) και Π4 – Π5 ($p < 0.05$). Για τις άλλες ομάδες πειραματισμού η συσσώρευση Cd ήταν σε πολύ χαμηλότερα επίπεδα. Η συσσώρευση μετάλλων (κυρίως Cd και Pb) στην ουροδόχο κύστη είναι μεγαλύτερη για την ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) χωρίς ωστόσο να υπάρχει σημαντική διαφορά στο pH των ούρων μεταξύ των ομάδων πειραματισμού (Γιαννάκης Δ., 1997).

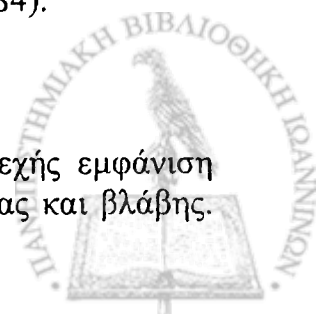
Η δράση του Cd στην ουροδόχο κύστη έχει αναφερθεί από πολλούς ότι έχει τοξική δράση. Οι Zigazchin et al., 1995 έδειξαν ότι το Cd^{+2} σε συγκεντρώσεις 10-100μM αναστέλλει τις συσπάσεις της ουροδόχου κύστεως σε ινδικά χοιρίδια, ενώ σε συγκεντρώσεις 1mM καταργεί πλήρως αυτές τις συσπάσεις, ανταγωνιζόμενο πιθανώς το Ca^{+2} στην λειτουργία της συσταλτικότητας της κύστεως. Ακόμη η έγχυση Cd ή Cd με Pb προκαλεί προκαρκινικές μεταβολές στο επιθήλιο του προστάτη και επίσης οδηγεί σε σχηματισμό ουρολίθων τόσο στους νεφρούς όσο και στην ουροδόχο κύστη (Wahba ZZ. et al., 1990, Khare N. et al., 1978).

Γ) Στους όρχεις: Από τα αποτελέσματά μας επίσης (εικ. 34) φαίνεται ότι η χορήγηση του λύματος του βιολογικού καθαρισμού προκάλεσε αύξηση της συσσώρευσης Cd στους όρχεις (ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα)) ενώ στην ομάδα Π4 (pH:7.0) παρουσιάστηκε μικρότερη συσσώρευση καθόλη τη διάρκεια του πειράματος, οι άλλες ομάδες έδειξαν ακόμη μικρότερη συσσώρευση.

Η συσσώρευση του Cd στους όρχεις επιφέρει αρκετές βλάβες και αρκετοί ερευνητές ανέφεραν ότι το Cd μέσω του πόσιμου νερού προκαλεί διάφορες ιστοπαθολογικές αλλαγές, μείωση του βάρους των όρχεων και των σπερματοδόχων κύστεων. Παράλληλα συμβάλλει στην αύξηση των παραγόμενων ελευθέρων ριζών $OH\cdot$, προκαλεί απόπτωση των κυττάρων των όρχεων, θρυμματισμό του DNA καθώς και μείωση της περιεχόμενης γλουταθειόνης και αφυδρογονάσης του γαλακτικού των όρχεων (McKenna et al., 1996, Yan H. et al., 1997, Laskey JW. et al., 1984).

Οι επιπτώσεις του Μολύβδου (Pb)

Όπως και στην περίπτωση του Cd έτσι και για το Pb η συνεχής εμφάνιση μεγάλων ποσοτήτων Pb στα ούρα είναι δείκτης νεφρικής δυσλειτουργίας και βλάβης.



Στους επίμυες του πειραματικού μας πρωτοκόλλου (εικ. 14) παρατηρήθηκε σταθερή και χαμηλή απέκκριση Pb για την ομάδα Π5(ελέγχου) καθώς και για τις Π2(1:5) και Π3(1:10) σε όλη τη διάρκεια της πειραματικής έκθεσης. Για τις ομάδες Π4(pH:7.0) και Π1(αυτούσιο λύμα) παρατηρήθηκε σημαντικά μεγαλύτερη απέκκριση Pb, ενώ υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.01$) μεταξύ των ομάδων Π1 και Π5 σχεδόν για όλη την περίοδο πειραματισμού. Η οξίνιση του λύματος φαίνεται ότι βοηθά στην απέκκριση Pb και είναι γνωστό ότι η διαλυτότητα και επομένως η τοξικότητα του Pb αυξάνει σε μαλακό και όξινο νερό οπότε εμφανίζονται ευδιάλυτα υδρο-είδη. Αυξάνοντας το pH (αλκαλοποίηση του νερού) ή τη σκληρότητα του νερού (προσθήκη Ca) μειώνεται η τοξικότητα του Pb στο νερό (Fergusson J., 1990).

Οι Kim R. et al., 1999 ανέφεραν ότι η έκθεση σε μικρά επίπεδα Pb μπορεί να επηρεάσει τη νεφρική λειτουργία σε άνδρες μέσης ηλικίας και ηλικιωμένους, ενώ φαίνεται να υπάρχει μεγαλύτερη και πιο γρήγορη επιδείνωση όταν η έκθεση γίνεται για μακρύ χρονικό διάστημα. Οι Roels HA. et al., 1999 ανέφεραν ότι σε άτομα που υφίστανται χρόνια εργασιακή έκθεση σε Pb παρουσιάστηκαν βλάβες στη σπειραματική διήθηση των νεφρών και αυξημένες συγκεντρώσεις Pb στα ούρα. Επίσης οι τοξικές επιδράσεις του Pb επιτείνονται όταν το περιεχόμενο Ca της διατροφής είναι χαμηλό (Moser R. et al., 1995).

A) Στους νεφρούς: Τα αποτελέσματά μας (εικ. 27) δείχνουν ότι ο Pb εμφανίζει αυξημένη τάση συσσώρευσης για την ομάδα Π4(pH:7.0) και περισσότερο για την ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) σε όλη τη διάρκεια του πειράματος. Μικρή συσσώρευση εμφανίζεται για την ομάδα Π5(ελέγχου) καθώς και για τις ομάδες Π2(1:5) και Π3(1:10). Επίσης την τελευταία περίοδο πειραματισμού οι ομάδες Π1-Π5 παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p<0.05$).

Η συσσώρευση Pb στο νεφρικό σύστημα έχει σχετισθεί με βλάβες στο περιφερικό σωληναριακό σύστημα, με μείωση στην επαναρρόφηση της γλυκόζης και των α-αμινοξέων και τέλος με την αυξημένη απέκκριση Pb και πρωτεϊνών μικρού μοριακού βάρους μέσω των ούρων (Loghman-Adham M., 1997, Moser R. et al., 1995). Οι Smith DR. et al., 1998 ανέφεραν ότι το μεγαλύτερο ποσοστό του Pb βρίσκεται στο φλοιό του νεφρού συνδεδεμένο με δύο πολυπεπτίδια, τη θυμοσίνη βήτα-4 και την ακυλ-CoA δεσμευτική πρωτεΐνη. Αλλαγές στη λειτουργία αυτών των πολυπεπτιδίων εμπλέκονται στο μεταβολισμό και τη δράση του Pb. Οι Oberley TD. Et al., 1995 παρατήρησαν σε επίμυες μετά από χορήγηση νερού με 250 ppm οξικού μολύβδου για μερικές εβδομάδες, σωληναριακές βλάβες στους νεφρούς κυρίως στα εγγύς εσπειραμένα, διάμεση ίνωση, χαρακτηριστικά πυρηνικά έγκλειστα και κυτταροπλασματικό ή/και πυρηνικό πλειομορφισμό στα νεφρικά σωληνάκια. Οι βλάβες συνοδεύονταν από αύξηση της δραστηριότητας ειδικών τύπων S-τρανσφεράσης της γλουταθειόνης, σημείο μη αντιστρεπτής νεφρικής βλάβης.

Ηπατονεφρικό σύνδρομο είναι δυνατόν να προκαλέσει και ο Cu, καθώς η συσσώρευσή του στο ήπαρ προκαλεί επαγωγή της χαλκομεταλλοθειονίνης, που κυκλοφορεί στο πλάσμα, διηθείται από τα σπειράματα και στον αυλό των εγγύς εσπειραμένων σωληναρίων και προκαλεί βλάβη της ψηκτροειδούς παρυφής λόγω διάσπασής της σε ελεύθερες ρίζες Cu και όξινα αμινοξέα (Nomiyama K. et al., 1999).

Οι νεφρικές αλλοιώσεις από την συσσώρευση μετάλλων ιδιαίτερα στα ζώα που απεβίωσαν αφορούν εναποθέσεις και έγκλειστα στην βασική μεμβράνη των νεφρικών σωληναρίων και εκφυλίσεις των αγγειωδών σπειραμάτων (πιν 24-27, εικ. 62). Η ομάδα Π1 μετά από 18 μήνες έκθεση εμφανίζει όπως και η Π4 τις βαρύτερες βλάβες και προφανώς οι εναποθέσεις Cd και Pb προστίθενται σ' αυτές του Cu ή και άλλων μετάλλων που υπήρχαν στο λύμα και κατά συνέπεια και οι τοξικές τους δράσεις.

B) Στην ουροδόχο κύστη: Η ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) έχει τη μεγαλύτερη συσσώρευση Pb καθόλη τη διάρκεια του πειράματος, η ομάδα Π4(pH:7.0) παρουσιάζει αρκετή αύξηση στη συσσώρευση, ενώ οι ομάδες Π2(1:5) και Π3(1:10) δείχνουν πολύ μικρή μεταβολή της συσσώρευσης Pb (εικ. 31). Η ομάδα Π5(ελέγχου) παρουσίασε τη μικρότερη συσσώρευση ενώ στους 24 μήνες πειραματισμού είχε την ίδια συγκέντρωση Pb με αυτή της ομάδας Π3(1:10).

Οι Fu H. et al., 1995 ανέφεραν ότι σε εργάτες με χρόνια εργασιακή έκθεση σε Pb παρατηρήθηκε αυξημένος κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου των πνευμόνων και της ουροδόχου κύστεως. Επίσης έχει αναφερθεί ότι έγχυση 1mg Pb στον προστάτη επίμυων είναι ικανή να προκαλέσει σχηματισμό ουρολίθων καθώς και υπερασβεστουρία τόσο στην ουροδόχο κύστη όσο και στον προστάτη (Khare N. et al., 1978).

Γ) Στους όρχεις: Η συσσώρευση Pb στους όρχεις είναι μικρή για την ομάδα Π5 (ελέγχου) ενώ για τις ομάδες Π2(1:5) και Π3(1:10) είναι ελαφρώς μεγαλύτερη, κύρια για την περίοδο 6 – 12 μήνες. Η ομάδα Π4(pH:7.0) δείχνει σταθερή συσσώρευση σε όλες τις πειραματικές περιόδους, ενώ μεγαλύτερη συσσώρευση Pb παρουσιάζει η ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) κυρίως κατά την τελευταία περίοδο πειραματισμού, όπου έχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) με την Π5 (εικ. 35).

Η συγκέντρωση Pb ιδίως μέσω της οδού της πόσης έχει δείξει ότι προκαλεί βλάβες στη λειτουργία των όρχεων κύρια μέσω της αύξησης των δράσεων των παραγόμενων ελευθέρων ριζών. Επίσης προκαλεί μείωση των ενζύμων των όρχεων της αφυδατάσης του δ – αμινολεβουλικού οξέος (δ-ALAD) και της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD) (Batra N. et al., 1998). Η συνδυασμένη χορήγηση Cd και Pb επιδρά στους όρχεις και ιδιαίτερα στο σύστημα αναπαραγωγής προκαλώντας μείωση της διαμέτρου των σπερματοφόρων σωληναρίων, μείωση του αριθμού των σπερματογονίων και πιθανή βλάβη των διάμεσων κυττάρων (Leydig) (Thoreux – ManLay A. et al., 1995).

Η επίδραση του Χαλκού (Cu)

Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 15) φαίνεται ότι η απέκκριση Cu από τα ούρα είναι περίπου στα ίδια επίπεδα για όλες τις ομάδες πειραματισμού, καθόλη τη διάρκεια του πειράματος. Έως το 18^ο μήνα πειραματισμού η συγκέντρωση Cu για τις ομάδες Π1(αυτούσιο λύμα) και Π4(pH:7.0) είναι σημαντικά αυξημένη σε σχέση με τις άλλες ομάδες. Φαίνεται ότι τα ζώα ομοιοστατούν ως προς το Cu και λόγω των αυξημένων εισροών, απεκκρίνουν μεγαλύτερες ποσότητες Cu για να διατηρήσουν σταθερά τα επίπεδα αυτού στο αίμα και τους ιστούς. Ασθενείς που έπασχαν από χρόνια δηλητηρίαση λόγω υψηλών συγκεντρώσεων μετάλλων (κυρίως Cu) στο νερό της ύδρευσης, εμφάνισαν σημαντικές απεκκρίσεις Cu μέσω των ούρων (Eife R. et al., 1999). Επίσης σε ασθενείς που είχαν δίαιτα με τροφή υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες και φυτικές ίνες, υπήρχε αύξηση στην απέκκριση Cu και Zn μέσω των ούρων (Rodriguez E. et al., 1995).

Κατά το τελευταίο εξάμηνο πειραματισμού παρατηρείται μείωση στην απέκκριση Cu (περίπου 50%) για τις ομάδες Π1(αυτούσιο λύμα) και Π4(pH:7.0). Αυτό ίσως σημαίνει πιθανή κατακράτηση του Cu για να αντιμετωπισθούν τυχόν βλάβες στα λειτουργικά συστήματα των πειραματόζων λόγω της χρόνιας έκθεσης στο υγρό λύμα του βιολογικού καθαρισμού π.χ. ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος, αύξηση στην παραγωγή μεταλλοθειονίνων (Irato P. et al., 1996).



A) Στους νεφρούς: Η αποθήκευση του Cu είναι σε παρόμοια επίπεδα για όλες τις ομάδες (εικ. 28) έως το 18^ο μήνα πειραματισμού. Οι ομάδες Π5(ελέγχου), Π2(1:5) και Π3(1:10) έχουν τη μικρότερη συσσώρευση, ενώ οι ομάδες Π1(αυτούσιο λύμα) και Π4(pH:7.0) εμφανίζουν τη μεγαλύτερη συσσώρευση Cu ιδίως μετά το 18^ο μήνα πειραματισμού. Την τελευταία περίοδο πειραματισμού (24 μήνες) υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) μεταξύ των ομάδων Π1 - Π5 και Π4 - Π5.

Οι μεγάλες ποσότητες Cu που εισέρχονται στον οργανισμό είναι δυνατόν να προκαλέσουν βλάβες στη λειτουργία των νεφρών με συμπτώματα όπως αιμοσφαιρινουρία, αιματουρία, ακόμη και νέκρωση των σωληναρίων (Toyokuni S. et al., 1989). Το ίδιο παρατηρείται και στην ασθένεια Wilson όπου οι διαταραχές στο μεταβολισμό του Cu επιδρούν στη νεφρική λειτουργία και μεταξύ άλλων επηρεάζουν το αντιοξειδωτικό σύστημα άμυνας του οργανισμού (μείωση της δράσης της SOD) και ενισχύουν τις τοξικές επιδράσεις των δραστικών μορφών οξυγόνου (Podracka L. et al., 1999). Οι Kim S. et al., 1996 και Disilvestro et al., 1997 ανέφεραν ότι βασικά ένζυμα του νεφρού όπως η γ-γλουταμυλκυστεϊνική συνθετάση καθώς και η διαμινο-οξειδάση (DAO) επηρεάζονται άμεσα από την έλλειψη ή την υπερβολική ποσότητα του Cu που αποθηκεύεται στον οργανισμό. Παθολογοανατομικά ο Cu φαίνεται να αποτελεί κύριο συστατικό των εναποθέσεων στα νεφρά και είναι ενδεικτικός του βαθμού συσσώρευσης και των παθολογοανατομικών βλαβών που προκαλούνται από αυτά.

B) Στην ουροδόχο κύστη: Οι τιμές του Cu στην ουροδόχο κύστη δείχνουν ότι υπάρχει μικρή αποθήκευση για τις ομάδες Π5(ελέγχου), Π2(1:5) και Π3(1:10). Μεγαλύτερη συσσώρευση Cu υπάρχει στις ομάδες Π1(αυτούσιο λύμα) και Π4(pH:7.0).

Παρατηρούμε ότι η ομάδα Π4 η οποία είχε και τη μικρότερη τιμή pH ούρων σχεδόν σε όλη την πειραματική περίοδο, παρουσίασε τη μεγαλύτερη συσσώρευση Cu στην ουροδόχο κύστη και φαίνεται ότι η οξינוποίηση του λύματος του βιολογικού καθαρισμού ενισχύει τη συσσώρευση Cu στην ουροδόχο κύστη καθώς και στους όρχεις όπως φαίνεται στο διάγραμμα (εικ. 32). Επίσης από προηγούμενη έρευνα έχει φανεί ότι η συσσώρευση Cu στην ουροδόχο κύστη ενισχύεται σε ελαττωμένο (όξινο) pH σε αντίθεση με τα Cd και Pb όπου υπάρχει αύξηση της συσσώρευσής τους σε αυξημένο (αλκαλικό) pH (Γιαννάκης Δ., 1997).

Γ) Στους όρχεις: Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 36) φαίνεται ότι η συσσώρευση Cu στους όρχεις είναι υψηλότερη για την Π4(pH:7.0) σε σχέση με την ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) σχεδόν σε όλη τη χρονική περίοδο του πειράματος. Οι συσσωρεύσεις Cu για τις υπόλοιπες ομάδες είναι σε παρόμοια επίπεδα.

Η υπερβολική συγκέντρωση ή η έλλειψη Cu στους όρχεις προκαλεί σοβαρές διαταραχές όπως τοξική δράση στη λειτουργία των όρχεων και της σπερματοδόχου κύστεως, ιδιαίτερα στα βλαστικά κύτταρα και το σπερματικό πόρο (Vrzgulova et al., 1995), στην παραγωγή και διακίνηση σπερματοζωαρίων μέσω μείωσης της αντίστασης σε οξειδωτικούς παράγοντες και ελάττωση στην κατανάλωση της γλυκόζης (Skandham KP. et al., 1992).

Η επίδραση του Ψευδαργύρου (Zn)

Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας (εικ. 16) η απέκκριση Zn μέσω των ούρων δεν εμφανίζει σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των ομάδων καθόλη την πειραματική περίοδο. Μετά το 18^ο μήνα πειραματισμού παρατηρείται μια μικρή αύξηση (περίπου 30%) στην απέκκριση Zn για τις ομάδες Π5 και Π3, ενώ φαίνεται να υπάρχει αντίστοιχη μείωση για τις ομάδες Π1 και Π4.

Φαίνεται ότι οι ισχυροί μηχανισμοί ομοιόστασης δεν επιτρέπουν τη συσσώρευση Zn και ενισχύουν την απέκκρισή του. Η μικρή κατακράτηση που παρατηρείται κυρίως μετά το 18^ο μήνα (για τις ομάδες Π1 και Π4) ίσως να οφείλεται στην χρησιμοποίησή του για ενίσχυση της άμυνας του οργανισμού στην αντιμετώπιση πιθανών λοιμογόνων παραγόντων. Η απέκκριση Zn μέσω των ούρων μπορεί να επηρεαστεί από διάφορες νεφρικές δυσλειτουργίες και παθήσεις όπως η αγγειονεφρίτιδα, καταστάσεις που δεν μπορεί να αποκλεισθούν για τα ζώα των ομάδων αυτών, ειδικότερα δε για αυτά της Π1.

Α) Στους νεφρούς: Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 29) φαίνεται ότι η συσσώρευση Zn κυμαίνεται σε παρόμοια επίπεδα για τις ομάδες Π1(αυτούσιο λύμα), Π4(pH:7.0) και Π2(1:5). Για τις ομάδες Π3(1:10) και Π5(ελέγχου) η συσσώρευση Zn είναι σε χαμηλότερα επίπεδα.

Διάφορες παθήσεις του νεφρού όπως η σπειραματονεφρίτιδα προκαλούν συσσώρευση Zn στο νεφρικό ιστό, ενώ ακόμη έχει αναφερθεί ότι σε ασθενείς που πάσχουν από καρκίνο υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ της δυσλειτουργίας των νεφρικών σωληναρίων και της αυξημένης συγκέντρωσης Zn στα ούρα (Melichar B. et al., 1995). Η μειωμένη συγκέντρωση Zn στο νεφρικό σύστημα μειώνει τη δράση του ανοσοποιητικού και ιδίως την άμυνα ενάντια στους οξειδωτικούς παράγοντες, προκαλεί μείωση στην επαγωγή των μεταλλοθειονινών, καθώς και μείωση στη δράση αρκετών ενζύμων του νεφρού (Oteiza P.I. et al., 1995, Chen S.M. et al., 1998).

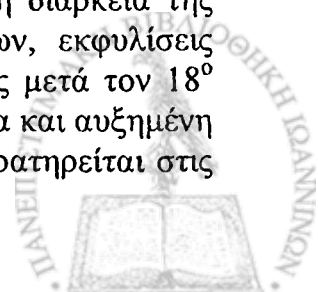
Β) Στην ουροδόχο κύστη: Η συσσώρευση Zn στην ουροδόχο κύστη όπως φαίνεται στην εικόνα 33, είναι μικρή για τις ομάδες Π5(ελέγχου), Π2(1:5) και Π3(1:10), ενώ εμφανίζεται μεγαλύτερη για τις ομάδες Π1(αυτούσιο λύμα) και Π4 (pH:7.0).

Η μεγαλύτερη συσσώρευση εμφανίζεται στην ομάδα Π4 και φαίνεται ότι η οξινποίηση του λύματος βοηθά στην αποθήκευση του Zn όπως έχει γίνει επίσης και στην περίπτωση του Cu.

Γ) Στους όρχεις: Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας (εικ. 37) φαίνεται ότι η βαρύτητα της συσσώρευσης Zn στους όρχεις ακολουθεί τη σειρά: ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) > ομάδα Π4(pH:7.0) > ομάδα Π2(1:5) > ομάδα Π3(1:10) > ομάδα Π5(ελέγχου). Τη μικρότερη συσσώρευση παρουσιάζουν οι ομάδες Π5 και Π3 καθόλη τη διάρκεια του πειράματος, ενώ τη μεγαλύτερη συσσώρευση εμφανίζουν οι ομάδες Π1 και Π4. Μέταλλα όπως το Cd ή ο Pb σε μεγάλες συγκεντρώσεις εκδιώκουν τον Zn από τους ζωικούς ιστούς και είναι δυνατόν να προκαλέσουν έλλειψή του.

Η μειωμένη περιεκτικότητα των όρχεων σε Zn έχει σχετισθεί με οξειδωτικές βλάβες στα λιπίδια, τις πρωτεΐνες και το DNA των όρχεων και με εκφυλίσεις στους όρχεις επίμυων, μειώσεις στα επίπεδα της τεστοστερόνης των όρχεων καθώς και διαφορές στη σπερματογένεση (Hafiez A.A. et al., 1990, Oteiza P.L. et al., 1996), αλλά αυτό δεν φαίνεται να συμβαίνει στα ζώα του πειράματός μας. Αντίθετα ο Zn σε ορισμένες ομάδες είναι σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες της ομάδας ελέγχου.

Συμπερασματικά η κρεατινίνη εμφανίστηκε ελαφρώς επηρεασμένη στην Π1 ομάδα όπου και παρατηρήθηκε αυξημένη συγκέντρωση Cd καθόλη τη διάρκεια της έκθεσης ενώ η ιστοπαθολογική εικόνα έδειξε εναποθέσεις μετάλλων, εκφυλίσεις σωληναρίων και σπειραμάτων καθώς και φλεγμονώδη αντίδραση ιδίως μετά τον 18^ο μήνα. Οι ομάδες Π1 και Π4 εμφάνισαν αυξημένη απέκκριση Pb στα ούρα και αυξημένη συγκέντρωση αυτού στα νεφρά. Μείωση στην απέκκριση Cu (50%) παρατηρείται στις ομάδες Π1 και Π4 το τελευταίο εξάμηνο πειραματισμού.



Ηπατική λειτουργία

Η εκτίμηση της ηπατικής λειτουργίας έγινε με τον προσδιορισμό βασικών ενζύμων της στον ορό των πειραματοζώων όπως η αμινοτρανσφεράση του ασπαρτικού AST (πρώην SGOT) και η αμινοτρανσφεράση της αλανίνης ALT (πρώην SGPT) και τις παθολογοανατομικές αλλοιώσεις του οργάνου. Τα παραπάνω συσχετίστηκαν με τον βαθμό συσσώρευσης των μετάλλων και την ιστοχημική τους ανίχνευση στο ήπαρ.

Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 17) φαίνεται ότι η AST δεν εμφανίζει σημαντική ($p > 0.05$) διαφοροποίηση στις τιμές σε όλες τις ομάδες με την πάροδο της πειραματικής έκθεσης. Η συγκέντρωση της AST ξεκινά από υψηλά σχετικά επίπεδα το 12^ο μήνα πειραματισμού και ακολουθεί πτωτική πορεία έως τον 24^ο μήνα κυρίως για την ομάδα Π1 (αυτούσιο λύμα).

Τα επίπεδα της ALT (εικ. 18) δεν εμφανίζουν στατιστική σημαντικότητα μεταξύ των ομάδων σε όλη τη διάρκεια του πειράματος, υπάρχει όμως στατιστικά σημαντική αύξηση ($p < 0.05$) της συγκέντρωσης ALT κυρίως για την ομάδα Π1 (αυτούσιο λύμα) από τους 12 μήνες έως τους 24 μήνες έκθεσης. Αρκετοί ερευνητές (Novelli EL. et al., 1998, Lupo S. et al., 1986) έχουν αναφέρει ότι η χορήγηση σε πειραματόζωα βαρέων μετάλλων και ιδιαίτερα Cd προκάλεσε σημαντικές διαταραχές στη λειτουργία του ήπατος, όπως αύξηση της ολικής και απευθείας χολερυθρίνης και κύρια αύξηση της συγκέντρωσης ALT στον ορό των πειραματοζώων. Εν τούτοις τα πειραματόζωα μας δεν εμφάνισαν τέτοιου βαθμού λειτουργικές διαταραχές στο ήπαρ παρά τις αυξημένες συγκεντρώσεις μετάλλων στον ηπατικό ιστό σε ορισμένες ομάδες πλην της ομάδας Π1.

Η επίδραση του Καδμίου (Cd)

Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 38) βλέπουμε ότι υπάρχει μικρή συσσώρευση Cd καθόλη την πειραματική περίοδο για τις ομάδες Π5 (ελέγχου), Π2(1:5) και Π3(1:10), ενώ για τις άλλες ομάδες Π4 (pH:7.0) και Π1 (αυτούσιο λύμα), η συσσώρευση Cd είναι σε σημαντικά μεγαλύτερα επίπεδα. Την τελευταία περίοδο πειραματισμού (24 μήνες) υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) μεταξύ των ομάδων Π1-Π5 και Π4-Π5.

Η χορήγηση Cd μέσω του πόσιμου νερού προκαλεί σημαντική συσσώρευση Cd στο ήπαρ και επηρεάζει τόσο τη λειτουργία όσο και τη μορφολογία του ήπατος. Έχει παρατηρηθεί ότι προκαλείται αύξηση της συγκέντρωσης λιποϋπεροξειδίων με αύξηση του σχηματισμού ουσιών που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS), ενώ αντίθετα υπάρχει μείωση στη δράση της δισμουτάσης του υπεροξειδίου που περιέχει Cu και Zn, πράγμα που φανερώνει έναρξη τοξικής δράσης του Cd λόγω της παραγωγής μεγάλων ποσοτήτων ελευθέρων ριζών υπεροξειδίου. Επίσης παρατηρούνται βλάβες των κυττάρων του ήπατος καθώς και αύξηση της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης (ALT) του ορού γεγονός που έχει ήδη σημειωθεί για την Π1 ομάδα (Bagchi D. et al., 1996, Lupo S. et al., 1986).

Επίσης η αποθήκευση αρκετών ποσοτήτων Cd προκαλεί μεγάλη επαγωγή των μεταλλοθειονινών του ήπατος, μείωση στο ηπατικό κυτόχρωμα P-450, καθώς και μείωση των επιπέδων Cu τόσο στο πλάσμα όσο και στο ήπαρ (Alexidis et al., 1994, Chisolm TC. et al., 1996). Οι συγκεντρώσεις Cu στον ηπατικό ιστό της ομάδας Π1 όπως ανιχνεύθηκαν με AAS, πράγματι, παρά το φορτίο μετάλλων του αυτούσιου λύματος που προσλαμβάνουν τα ζώα βρέθηκαν στα ίδια επίπεδα με αυτά της ομάδας Π5 (ελέγχου), εκτός ίσως από το τελευταίο εξάμηνο έκθεσης (εικ. 40). Οι εναποθέσεις μετάλλων όμως όπως φαίνεται από τα παθολογοανατομικά ευρήματα μας είναι σοβαρές (πιν. 24 - 27) κυρίως στα ζώα της Π1 ομάδας που απεβίωσαν μετά από 18μηνη περίοδο

έκθεση. Οι εναποθέσεις αυτές οδήγησαν σε ικανού βαθμού εκφυλίσεις και νεκρώσεις των ηπατοκυττάρων που πιθανώς προκάλεσαν και την ανιχνευθείσα αύξηση της ALT.

Η επίδραση του Μολύβδου (Pb)

Τα αποτελέσματά μας από τη χορήγηση του λύματος του βιολογικού καθαρισμού δείχνουν ότι μικρές συσσωρεύσεις Pb εμφανίζουν οι ομάδες Π5(ελέγχου), Π2(1:5) και Π3(1:10) καθόλη τη διάρκεια του πειράματος (εικ. 39). Αυξημένη συσσώρευση Pb εμφανίζεται για την ομάδα Π4(pH:7.0) ενώ τη μεγαλύτερη τάση συσσώρευσης σε όλη τη διάρκεια της πειραματικής έκθεσης εμφανίζει η ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα). Οι συγκεντρώσεις Pb για τις ομάδες Π1 και Π5 εμφανίζουν σημαντικά στατιστική διαφορά ($p < 0.05$) κυρίως στο τέλος των 24 μηνών έκθεσης.

Ο Pb όπως και το Cd που χορηγείται στα πειραματόζωα εμφανίζεται σε αυξημένες συγκεντρώσεις στο ήπαρ όπου γίνεται προσπάθεια απέκκρισής του. Όταν υπάρχει μεγάλη χορήγηση Pb ή χρόνια έκθεση, τότε γίνεται συσσώρευση Pb στο ήπαρ και μπορεί να επηρεαστούν πολλές λειτουργίες του. Έτσι έχει αναφερθεί ότι προκαλεί αναστολή στο μεταβολισμό των φαρμάκων, αναστολή των αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως της τρανφεράσης της γλουταθειόνης, της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (που περιέχουν Cu και Zn) και της καταλάσης, με αποτέλεσμα την υπεροξειδωση των λιπιδίων και την καταστροφή των μεμβρανών των ηπατοκυττάρων (Vij AG. et al., 1998, Daggett DA. et al., 1997).

Τα παθολογοανατομικά μας ευρήματα δείχνουν ειδικότερα μάλιστα στα ζώα που απεβίωσαν και δεν θανατώθηκαν προς έλεγχο, της ομάδας Π1 κυρίως και λιγότερο της Π4, έντονη εκφύλιση και εκτεταμένες νεκρώσεις των ηπατοκυττάρων, με άφθονες εναποθέσεις σωματιδίων και άφθονα υπεραιμικά τριχοειδή. Οι εικόνες αυτές εμφανίζονται 12 μήνες μετά την έκθεση και είναι χαρακτηριστικές νεκρωτικής φλεγμονής στην οποία κύρια συμμετέχουν τα μεταλλικά σωματίδια που συσσωρεύτηκαν στο ηπατικό παρέγχυμα (εικ 65 α,β,γ).

Τα ζώα της ομάδας Π4(αυτούσιο λύμα, pH:7.0) που απεβίωσαν παρουσιάζουν σπάνιες εκφυλίσεις ηπατοκυττάρων ή εναποθέσεις σωματιδίων. Ελάχιστα επομένως θα μπορούσε να ενοχοποιηθούν για τον θάνατο τους, ηπατικές βλάβες λόγω εναπόθεσης μετάλλων, σε αντίθεση με τα δεδομένα της ομάδας Π1.

Θα μπορούσαμε να συμπεράνουμε ότι το pH:~7.0 στο λύμα ασκεί όσον αφορά το ήπαρ τουλάχιστον σημαντικό βαθμό προστασία έναντι των βλαπτικών επιπτώσεων της χρόνιας έκθεσης σε βαρέα μέταλλα μέσω του πόσιμου νερού.

Η επίδραση του Χαλκού (Cu)

Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας διαπιστώνεται ότι δεν υπάρχει σημαντική διαφορά στη συσσώρευση Cu στο ήπαρ για όλες τις ομάδες καθόλη τη διάρκεια του πειράματος (εικ. 40). Η ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) παρουσιάζει τάση συσσώρευσης μόνο την περίοδο από 18 - 24 μήνες ενώ για τις ομάδες Π4(pH:7.0), Π5(ελέγχου) Π2(1:5) και Π3(1:10) η τάση συσσώρευσης είναι σε μικρότερα επίπεδα.

Η συσσώρευση ή η έλλειψη Cu στο ήπαρ είναι δυνατό να προκαλέσει αρκετές διαταραχές και σύμφωνα με τους Scheinberg H. et al., 1976, η αποθήκευση μεγάλων ποσοτήτων Cu (π.χ. ασθένεια Wilson) μπορεί να παρεμποδίσει τη σύνθεση σερουλοπλασμίνης του πλάσματος και σε τελικό στάδιο κίρρωση. Η εναπόθεση του Cu όμως δεν είναι αμελητέα στο ήπαρ (εικ 63γ), όπως αποκαλύπτει η ειδική χρώση ροδαμίνης. Κυρίως φαίνεται να αφορά την ομάδα Π1.



Η επίδραση του Ψευδαργύρου (Zn)

Τα πειραματικά μας δεδομένα δείχνουν ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική μεταβολή στη συσσώρευση Zn στο ήπαρ των ομάδων σε όλη τη διάρκεια του χρόνου πειραματισμού (εικ. 41).

Συμπερασματικά από τη μελέτη του συστήματος αυτού προέκυψε ότι η ηπατική λειτουργία παρουσιάζεται ελαφρά επηρεασμένη μεταξύ 18-24 μηνών καθώς εμφανίζεται αύξηση της ALT ($p < 0.05$) στην ομάδα Π1. Στο τέλος της περιόδου έκθεσης οι ομάδες Π1 και Π4 έχουν στο ήπαρ τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις Cd, Pb και λιγότερο Cu. Παθολογοανατομικά τα ζώα που απεβίωσαν μετά από 18μηνη έκθεση εμφανίζουν εναποθέσεις που οδήγησαν σε σοβαρές εκφυλίσεις και νεκρώσεις ηπατοκυττάρων.

Καρδιακή λειτουργία

Οι επιδράσεις των μετάλλων στην καρδιακή λειτουργία μελετήθηκαν με τη βοήθεια ηλεκτροκαρδιογραφημάτων στους διαφόρους χρόνους της μελέτης από τα οποία αξιολογήθηκαν οι μεταβολές της καρδιακής συχνότητας, οι εμφανισθείσες αρρυθμολογικές διαταραχές και έμμεσα ηλεκτροκαρδιογραφικά σημεία όπως η πτώση του S-T. Οι παράμετροι αυτοί συσχετίστηκαν με τον βαθμό συσσώρευσης των μετάλλων στον καρδιακό ιστό στις διάφορες ομάδες και χρόνους της μελέτης.

Από τα αποτελέσματα των ηλεκτροκαρδιογραφικών διαταραχών (εικ. 20 και 21) παρατηρείται ότι τις περισσότερες διαταραχές στη λειτουργία της καρδιάς εμφανίζουν τα πειραματόζωα της ομάδας Π1(αυτούσιο λύμα) και στη συνέχεια αυτά των ομάδων Π2(1:5) και Π4(pH:7.0). Συγκεκριμένα τα ζώα της ομάδας Π1 άρχισαν να εμφανίζουν μεταβολές από το 18^ο μήνα πειραματισμού και μετά, όπως αύξηση του αριθμού των σφίξεων (425 ± 50), έκτακτες συστολές καθώς και πτώση του διαστήματος S-T (απαγωγές I και AVF). Την ίδια περίοδο τα ζώα των ομάδων Π2 και Π4 δεν εμφανίζουν σημαντική αύξηση της καρδιακής συχνότητας (360 ± 25) και (320 ± 30) αντίστοιχα.

Την τελευταία περίοδο πειραματισμού (24 μήνες) τα ζώα της ομάδας Π1(αυτούσιο λύμα) εξακολουθούν να έχουν αυξημένο αριθμό σφίξεων (400 ± 25) και παρουσίασαν κολποκοιλιακούς αποκλεισμούς, έκτακτες συστολές και πτώση του S-T. Στα ζώα των ομάδων Π2 και Π4 η αύξηση της καρδιακής συχνότητας είναι μικρότερη (320 ± 40) και (350 ± 20) αντίστοιχα και δεν διαφέρουν από αυτήν της ομάδας ελέγχου (Π5).

Για τις υπόλοιπες ομάδες Π3(1:10) και Π5(ελέγχου) δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές ηλεκτροκαρδιογραφικές διαταραχές στην περίοδο έκθεσης.

Τις μεγαλύτερες επιβαρύνσεις στην καρδιακή λειτουργία εμφανίζουν τα ζώα της ομάδας Π1(αυτούσιο λύμα). Συγκεκριμένα παρουσιάζουν κολποκοιλιακούς αποκλεισμούς (AV block), έκτακτες ή πρώιμες συστολές, ταχυκαρδίες, και συχνότερα πτώση του διαστήματος S-T. Οι αιτίες για τις οποίες εμφανίζονται κολποκοιλιακοί αποκλεισμοί είναι αρκετές όπως: ισχαιμία του κολποκοιλιακού κόμβου ο οποίος προκαλεί βλάβη στις στεφανιαίες αρτηρίες και στη συνέχεια καθυστέρηση της διέγερσης, φλεγμονή του κολποκοιλιακού κόμβου από διάφορες μυοκαρδίτιδες που προκαλεί καταστολή της αγωγιμότητας μεταξύ των κόλπων και των κοιλιών και συμπίεση της κολποκοιλιακής περιοχής από σχηματισμούς αθηρωματικών πλακών, η οποία μπορεί να αποκλείσει την αγωγή της διέγερσης από τους κόλπους προς τις κοιλίες (Guyton, 1998).

Οι ηλεκτροκαρδιογραφικές διαταραχές που εμφανίστηκαν κυρίως στην ομάδα αυτούσιου λύματος (Π1) θα μπορούσαν να αποδοθούν στην αυξημένη συσσώρευση

βαρέων μετάλλων κυρίως Cd και Pb στο μυοκάρδιο των ζώων της ομάδας αυτής. Από τα αποτελέσματά μας είναι εμφανές ότι τα παραπάνω μέταλλα συσσωρεύθηκαν στο κοιλιακό μυοκάρδιο των ζώων της ομάδας Π1 σε πολύ υψηλότερο βαθμό από ότι στις άλλες ομάδες (εικ. 42,43). Τα ανωτέρω υποστηρίζονται και από βιβλιογραφικά δεδομένα που δείχνουν ότι η λήψη Pb και Cd μέσω του πόσιμου νερού είναι υπεύθυνη για διάφορες ισχαιμικές νόσους της καρδιάς και επίσης προκαλεί αύξηση της αρτηριακής πίεσης και αλλαγές στο μυοκάρδιο λόγω της επίδρασης Pb στη μεταφορά Ca^{+2} (Lal B. et al., 1991, Moore MR. et al., 1975, Houtman JP., 1996).

Ακόμη βαρέα μέταλλα όπως τα παραπάνω έχουν ενοχοποιηθεί ότι συμμετέχουν σε διαδικασίες αθηρωμάτωσης και ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (Grabowska-Maslanka A. et al., 1998) που οδηγούν στην εμφάνιση τοπικής ή γενικής μυοκαρδιακής ισχαιμίας. Οι ισχαιμικές αυτές καταστάσεις θα μπορούσαν να ερμηνεύσουν τόσο την πτώση του S-T που εμφανίστηκε κυρίως στα ζώα της ομάδας Π1 (αυτούσιο λύμα) καθώς και τις διαταραχές του ρυθμού (έκτακτες συστολές και κολποκοιλιακός αποκλεισμός). Παράλληλα μερικά από τα μέταλλα αυτά όπως το Cd θα μπορούσε να προκαλέσει και διαταραχές της διεγερσιμότητας των καρδιακών κυττάρων δεδομένου ότι η είσοδος του Cd γίνεται μέσω των διαύλων του Ca^{+2} στα καρδιακά κύτταρα (Limaye DA. et al., 1999) και προκαλεί διαταραχές της ανταλλαγής ιόντων $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{+2}$ στα καρδιομυοκύτταρα (Hobai IA. et al., 1997).

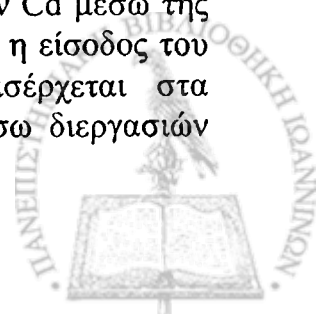
Από την άλλη μεριά ο Pb επηρεάζει την λειτουργία πολλών ενδοκυτταρικών ενζύμων, προκαλεί δυσλειτουργία των καρδιομυοκυττάρων και της ενδοκυτταρικής ομοιόστασης Ca^{+2} (Fujiwara Y. et al., 1998). Τέλος και τα δύο αυτά μέταλλα ευθύνονται για τοξικές βλάβες του μυοκαρδίου και αποτελούν παράγοντες κινδύνου από καρδιαγγειακές βλάβες (Staessen JA. et al., 1996, Cheng Y. et al., 1998).

Η χρόνια έκθεση σε διάφορα περιβαλλοντικά τοξικά όπως το Cd και ο Pb ακόμη και σε μικρές συγκεντρώσεις μπορούν να προκαλέσουν βλάβες στη λειτουργία της καρδιάς, τόσο μέσω κολποκοιλιακών και ενδοκοιλιακών αποκλεισμών (Cheng Y. et al. 1998) όσο και μέσω συνθηκών που προκαλούν καταστάσεις ισχαιμίας στην καρδιά (Moore MR. et al., 1975, Grabowska – Maslanka A. et al., 1998).

Η επίδραση του Καδμίου (Cd)

Από τα αποτελέσματά μας φαίνεται ότι συσσώρευση Cd είναι σε μικρά επίπεδα για τις ομάδες Π5(ελέγχου), Π2(1:5) και Π3(1:10). Για τις ομάδες Π4(pH:7.0) και Π1(αυτούσιο λύμα) παρουσιάζεται μεγαλύτερη συσσώρευση Cd σχεδόν σε όλη τη διάρκεια του πειράματος. Ιδιαίτερα στους 24 μήνες πειραματισμού υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) στις τιμές Cd μεταξύ των ομάδων Π1-Π5 και Π4 - Π5 (εικ. 42).

Σύμφωνα με αρκετούς ερευνητές, η χορήγηση Cd σε επίμυες μέσω της πόσης προκαλεί σημαντική αύξηση στο βάρος της καρδιάς με πρόκληση ιστοπαθολογικών αλλαγών. Επίσης το Cd προκαλεί μείωση στη δράση διαφόρων ενζύμων που συμμετέχουν στην αντιοξειδωτική άμυνα, όπως τα υπεροξειδία της γλουταθειόνης και της δισμουτάσης, ενώ φαίνεται ότι η δράση του Cd είναι μεγαλύτερη όταν υπάρχει μειωμένη λήψη Cu μέσω της διαίτας (Jamall IS. et al., 1989, Zikic RV. et al., 1998). Οι Limaye DA. et al., 1999 ανέφεραν ότι η χρόνια λήψη μικρών ποσοτήτων Cd μέσω της πόσης προκάλεσαν καρδιοτοξικότητα και in vivo πειράματα έδειξαν ότι η είσοδος του Cd γίνεται μέσω των καναλιών Ca. Μεγάλη ποσότητα Cd εισέρχεται στα καρδιομυοκύτταρα κύρια με αντικατάσταση των Ca, Zn και Cu μέσω διεργασιών μεταφοράς ουσιών που τα περιέχουν.



Επίσης έχει αναφερθεί ότι το Cd που εισέρχεται μέσω της πόσης ή της τροφής στον οργανισμό συνεισφέρει σημαντικά στην αύξηση της αρτηριακής πίεσης (Kopp SJ. et al., 1982) και επηρεάζει σημαντικά την ομοιόσταση του Ca^{+2} (Staessen JA. et al., 1996) προκαλώντας διαταραχές στην ανταλλαγή Na^+/Ca^{+2} στα καρδιομυοκύτταρα και έναρξη σχηματισμού αθηρωματικών πλακών (Hobai IA. et al., 1997).

Η επίδραση του Μολύβδου (Pb)

Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας (εικ. 43) παρατηρείται την περίοδο 0 – 12 μήνες σημαντική αύξηση του ρυθμού συσσώρευσης Pb για τις ομάδες Π1 και Π4 και επίσης παρουσιάζεται σημαντική αύξηση του ρυθμού συσσώρευσης για την ομάδα Π1 την περίοδο 18 – 24 μήνες. Μικρότερη συσσώρευση Pb εμφάνισαν οι ομάδες Π5(ελέγχου), Π3(1:10) και Π2(1:5). Επίσης την ίδια περίοδο (24 μήνες) υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) στις τιμές Pb μεταξύ των ομάδων Π1-Π5 ενώ δεν υπάρχει στατιστική σημαντικότητα ($p > 0.05$) μεταξύ Π4 – Π5.

Αρκετοί ερευνητές έδειξαν ότι η χορήγηση Pb, κυρίως μέσω της πόσης, προκάλεσε αρκετές βλάβες λόγω συσσώρευσης, τόσο στον καρδιακό ιστό όσο και στην λειτουργία της καρδιάς. Παρατηρήθηκε ελάττωση της δράσης αρκετών ενζύμων όπως της σιδηροχηλικάσης και της αφυδατάσης του δ-αμινολεβουλινικού οξέος(δ-ALAD), καθώς και σημαντικές αλλαγές στο μυοκάρδιο και τα μιτοχόνδρια του μυοκαρδίου (Moore MR. et al., 1975). Οι Fujiwara Y. et al., 1998 ανέφεραν ότι η βλαπτική ικανότητα του Pb να υποκαθιστά το Fe και τον Zn σε αρκετά ένζυμα του καρδιακού ιστού σχετίζεται τόσο με την κυτταρική δυσλειτουργία των καρδιομυοκυττάρων και την επουλωτική δράση του Zn, όσο και με τις διαταραχές που παρουσιάζονται στην ενδοκυττάρια ομοιόσταση του ασβεστίου.

Σημαντικές είναι επίσης οι ηλεκτροκαρδιογραφικές διαταραχές που παρουσιάζονται ύστερα από χρόνια έκθεση χαμηλών δόσεων Pb και που έχει φανεί ότι προκαλεί αύξηση κινδύνου κολποκοιλιακού αποκλεισμού σε άνδρες άνω των 65 ετών καθώς και μεταβολή στην ροή ασβεστίου που σχετίζεται με έναρξη δημιουργίας αθηρωματικών πλακών (Cheng Y. et al., 1998).

Η επίδραση του Χαλκού (Cu)

Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 44) παρατηρούμε ότι υπάρχει παρόμοια διακύμανση στη συσσώρευση του Cu σε όλες τις ομάδες πειραματισμού για όλη την πειραματική έκθεση.

Η επίδραση των συγκεντρώσεων Cu στον καρδιακό ιστό είναι σημαντική και έχει βρεθεί ότι η έλλειψη Cu σχετίζεται με πολλές διαταραχές όπως μεγαλοκαρδία, ανάπτυξη υπερτροφίας της δεξιάς κοιλίας, αυξημένη επιφάνεια μιτοχονδρίων (Mao S. et al., 1998, Lear PM. et al., 1997). Επίσης παρατηρούνται αύξηση των συγκεντρώσεων των λιπιδίων, βλάβες στη λειτουργία των καρδιομυοκυττάρων καθώς και καρδιομυοπάθειες (Nath R., 1997). Ακόμη η έλλειψη Cu προκαλεί μείωση στη δράση των αντιοξειδωτικών ενζύμων της καρδιάς, της δισμουτάσης του υπεροξειδίου, της καταλάσης και της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης και τα οποία είναι υπεύθυνα για τις οξειδωτικές βλάβες στους καρδιακούς ιστούς επιμύων που έχουν έλλειψη Cu (Chen Y. et al., 1994).



Η επίδραση του Ψευδαργύρου (Zn)

Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 45) παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει σημαντική διαφορά στη συσσώρευση Zn στις περισσότερες ομάδες, καθόλη τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου. Για την ομάδα Π4(pH:7.0) φαίνεται ότι η οξίνιση του λύματος βοηθά σημαντικά στη συσσώρευση Zn.

Ο ρόλος του Zn είναι πολύ σημαντικός για τη λειτουργία της καρδιάς, ενώ είναι γνωστό ότι έχει επιδιορθωτική – επουλωτική δράση στα τραυματισμένα ενδοθήλια των αγγείων. Επίσης, η επαρκής ποσότητα Zn βοηθά στην εξασθένηση της αρνητικής δράσης των φραγμάτων που προκαλούνται από ογκογόνους παράγοντες νέκρωσης των κυτοκινών λόγω φλεγμονής. Η έλλειψη Zn επιδρά θετικά στο σχηματισμό αθηρωματικών πλακών καθώς και σε βλάβες στις λειτουργίες των αγγείων (Connell P. et al., 1997). Ιδιαίτερα η παρουσία Zn συμμετέχει στη σταθεροποίηση της μεμβράνης των κυττάρων και ενισχύει την άμυνα ενάντια σε παράγοντες που προκαλούν αποσταθεροποίηση του κυττάρου όπως πολυακόρεστα λιπίδια και κυτοκίνες λόγω φλεγμονής. Η ελάττωση στη συγκέντρωση Zn σε συνδυασμό με την ύπαρξη ορισμένων λιπιδίων προκαλούν ενεργοποίηση της παραγωγής κυτοκινών, δυσλειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων και τελικά σχηματισμό αθηρωμάτωσης (Hennig B. et al., 1996, Shankar AH. et al., 1998). Έχει δειχθεί όμως πειραματικά (σε ινδικά χοιρίδια) ότι μικρή αύξηση της συγκέντρωσης του Zn στον καρδιακό ιστό μπορεί να προκαλέσει διαταραχές του καρδιακού ρυθμού (Evangelou A. et al. 1995) και ανάλογα με τα επίπεδα του κολλοκοιλιακούς αποκλεισμούς και έκπτωση της έντασης της καρδιακής συστολής (Kalfakakou V. et al., 1993).

Από τα παραπάνω προέκυψε ότι Ο Pb και το Cd κυρίως στην Π1 εμφανίζουν στατιστικά αυξημένες συγκεντρώσεις στον καρδιακό ιστό στο τέλος της έκθεσης ($p=0.013$, $p=0.016$ αντίστοιχα). Οι ηλεκτροκαρδιογραφικές διαταραχές που παρατηρούνται πιθανότατα οφείλονται στην εναπόθεση μετάλλων στο μυοκάρδιο.

Αναπνευστικό σύστημα

Οι επιπτώσεις των μετάλλων στο σύστημα αυτό ελέγχθηκαν κυρίως από τις παθολογοανατομικές αλλοιώσεις και την ιστοχημική ανίχνευση των μετάλλων στον πνευμονικό ιστό σε συσχέτιση με τον βαθμό συσσώρευσης των μετάλλων στους πνεύμονες στις διάφορες ομάδες και χρόνους της μελέτης.

Η επίδραση του Καδμίου (Cd)

Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 46) φαίνεται ότι τη μικρότερη συσσώρευση Cd στους πνεύμονες παρουσιάζουν οι ομάδες Π5(ελέγχου), Π2(1:5) και Π3(1:10). Αντίθετα μεγαλύτερες συσσωρεύσεις εμφανίζονται στην ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) και περισσότερο στην Π4(pH:7.0). Επίσης κατά το τέλος της πειραματικής περιόδου υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p<0.05$) στις συγκεντρώσεις Cd μεταξύ των ομάδων Π1 - Π5 και Π4 - Π5.

Η παρουσία Cd στους πνεύμονες, μέσω έγχυσης ή μέσω αναπνευστικής έκθεσης, έχει σχετισθεί με αρκετές διαταραχές στη λειτουργία τους. Έχει αναφερθεί ότι προκαλεί αυξημένη τάση ανάπτυξης πνευμονικού εμφυσήματος, αλλαγές στη μορφολογία των κυψελίδων του πνεύμονα, βλάβες στην κατασκευή του ενδοθηλίου και διάχυτες περιοχές κατεστραμμένων κυψελίδων (Farina J. et al., 1996). Οι αυξημένες συγκεντρώσεις Cd που παρουσιάζονται στις ομάδες Π1(αυτούσιο λύμα) και Π4(pH:7.0) είναι δυνατό να προκαλέσουν αύξηση της λιπιδικής υπεροξειδωσης στους πνεύμονες,

εκτεταμένες βλάβες στο συνδετικό ιστό των πνευμόνων μέσω αναστολών στην παραγωγή πρωτεϊνών συνδετικού ιστού καθώς και αύξηση στην επαγωγή των μεταλλοθειονινών των πνευμόνων για δέσμευση του Cd και μεταφορά αυτού στο ήπαρ ή στο νεφρό (Manca D. et al., 1994, Chambers RC. et al., 1998).

Η επίδραση του Μολύβδου (Pb)

Όσον αφορά την επίδραση του Pb στους πνεύμονες (εικ. 47) φαίνεται ότι τη μικρότερη συσσώρευση εμφανίζουν οι ομάδες Π5(ελέγχου), Π3(1:10), Π2(1:5), ενώ τις μεγαλύτερες συσσωρεύσεις Pb εμφανίζουν οι ομάδες Π4 (pH:7.0) κυρίως κατά το διάστημα 18-24 μήνες και η ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) καθόλη την πειραματική έκθεση. Επίσης τον 24^ο μήνα πειραματισμού υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) μεταξύ των συγκεντρώσεων Pb για τις ομάδες Π1-Π5 και Π4 - Π5.

Οι αυξημένες συγκεντρώσεις Pb που παρατηρούνται στις ομάδες Π1(αυτούσιο λύμα) και λιγότερο στην Π4(pH:7.0) μπορούν να οδηγήσουν σε διάφορες καταστάσεις στρες, η χρόνια λήψη Pb μέσω πόσης ή αναπνευστικής οδού, έχει βρεθεί ότι προκαλεί αρκετές επιπλοκές στη λειτουργία των πνευμόνων. Έχουν αναφερθεί συμπτώματα όπως φλεγμονές (λόγω βλαβών στην λειτουργία των μακροφάγων), υπερτροφία των επιθηλίων και/ή υπερπλασία, ακόμη και εμφάνιση καρκίνου (Hext PM., 1994). Επίσης έχουν αναφερθεί (Marek K. et al., 1979) παθοφυσιολογικές βλάβες όπως εμφύσημα, ενδοπαρεγχυματική ίνωση και πνευμονοκονίωση από χρόνια έκθεση Pb, καθώς και μόνιμες βλάβες στις μεμβράνες όπως και αλλαγές στο κυτταρόπλασμα των πνευμονοκυττάρων και πρόκληση ίνωσης των κυψελίδων (Tatrai E. et al., 1998). Ακόμη η ύπαρξη Pb στους πνεύμονες επιδρά και στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος κυρίως μέσω των βλαβών στα μακροφάγα (Zelikoff JT. et al., 1993).

Η επιβάρυνση της ομάδας Π1 με μέταλλα που διαπιστώνεται από τα αυξημένα επίπεδα ιδίως μεταξύ 18-24 μηνών αντιστοιχεί απόλυτα με τα ιστολογικά ευρήματά μας. Την ίδια περίοδο ζώα που απεβίωσαν της ομάδας Π1 εμφανίζουν τις πλέον εκτεταμένες εναποθέσεις σωματιδίων, σοβαρή διάμεση ίνωση, φλεγμονώδεις αντιδράσεις και αιμορραγικές αλλοιώσεις του πνευμονικού παρεγχύματος (πιν. 26,27).

Οι αλλοιώσεις του τύπου των φλεγμονωδών διηθήσεων εμφανίζονται ήδη από τον 6^ο μήνα ενώ οι εναποθέσεις γίνονται ορατές από τον 12^ο μήνα. Μικρές εναποθέσεις και μέτρια διάμεση ίνωση εμφανίζει και η Π4 ομάδα την περίοδο των 18 μηνών σε ζώα που απεβίωσαν εκείνη την περίοδο. Είναι φανερό ότι η συστηματική χρόνια έκθεση σε βαρέα μέταλλα έχει σοβαρές επιπτώσεις, τουλάχιστον σε ένα πληθυσμό ζώων, στους πνεύμονες (εικ. 64 α,β,γ,δ,ε).

Τα ευρήματα από τους πνεύμονες ιδιαίτερα στα ζώα της Π1 ομάδας, είναι χαρακτηριστικά με τις πυκνότερες εναποθέσεις κυρίως στον περιαγγειακό χώρο και τη βαριά διάμεση ίνωση. Οι αλλοιώσεις αυτές σύμφωνα με τους Driscoll KE. et al., 1992 και Frankel FR. et al., 1991, είναι χαρακτηριστικές στα ιστοπαθολογικά ευρήματα των πνευμονικών βλαβών μετά από ενστάλλαξη χλωριούχου Cd στους πνεύμονες επίμυων. Ιδιαίτερα η πνευμονική ίνωση εμφανίστηκε σε όλα τα επίπεδα δόσεων χλωριούχου Cd. Ο μηχανισμός των φλεγμονωδών αλλοιώσεων, της ίνωσης και των εγκλειστών φαίνεται να πραγματοποιείται από τα κυψελιδικά μακροφάγα τα οποία επαγόμενα από το Cd παράγουν φμπρονεκτίνη που οδηγεί σε ίνωση και αποτελεί προφανή ή πρώιμο δείκτη της ίνωσης.

Οι ίδιοι μηχανισμοί φαίνεται να συνδέονται και με τις τοξικές δράσεις του Cu και του Ni από τη σκόνη ορυχείων στους εκεί εργαζόμενους που εμφανίζουν αντίδραση ίνωσης των πνευμόνων 3-6 μόλις μήνες από την έναρξη της εργασιακής έκθεσης. (Lutsenko LA. et al., 1997).

Το Cd ωστόσο αποτελεί το πλέον επικίνδυνο μέταλλο για τους πνεύμονες επειδή εκτός της σοβαρής πνευμονικής φλεγμονής και ίνωσης που προκαλεί απορροφάται έντονα από τους πνεύμονες και είναι δυνατόν να προκαλέσει και εξωπνευμονική τοξικότητα (Morgan DL. et al., 1997).

Η επίδραση του Χαλκού (Cu) και του Ψευδαργύρου (Zn)

Τα αποτελέσματά μας (εικ. 48, 49) δεν δείχνουν σημαντικές διαφορές ($p > 0.05$) στη συσσώρευση Cu μεταξύ των ομάδων. Η ομάδα Π4 (pH:7.0) δείχνει τη μεγαλύτερη συσσώρευση ιδίως την περίοδο των 12 πρώτων μηνών πειραματισμού.

Βιβλιογραφικά έχουν αναφερθεί περιπτώσεις όπου έγχυση μεγάλης ποσότητας Cu στους πνεύμονες επίμυων προκάλεσε έκλυση ουσιών λόγω φλεγμονής όπως ένζυμα, πρωτεΐνες (αφυδρογονάση της λακτάσης, γλυκουρονιδάση) και ιχνοστοιχεία (ασβέστιο) (Hirano S. et al., 1993, Hirano S. et al., 1990). Πυκνές στρογγυλοκυτταρικές φλεγμονώδεις διηθήσεις περιβραγχικά που περιέχουν Cu, είναι εμφανείς σε ζώα της Π1 ομάδας που απεβίωσαν μετά από 6 μήνες έκθεσης στο λύμα. Κατά την διάρκεια των επόμενων μηνών ζώα που απεβίωσαν, επίσης της Π1 και της Π4 εμφανίζουν ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις αύξουσας βαρύτητας όχι όμως και τα ζώα της Π1 που στο ίδιο διάστημα θανατώθηκαν (πιν. 26 και εικ. 64 β,γ,δ,ε.). Πιθανότατα οι διαφορές να είναι γενετικές ή όπως παρατηρούν οι Rotolichio I. et al., 1997 οι διαφορές θνησιμότητας που απαντούν εντός μιας από τις πειραματικές μας ομάδες, πιθανά να οφείλονται στη διαφορετική γενετική ευαισθησία των ατόμων. Παθήσεις που συνδέονται με βαρέα μέταλλα (Hard metal disease = HMD) συσχετίζονται ισχυρά με ορισμένες HLA - αντιγονικές θέσεις που φαίνεται να καθιστούν πιο ευάλωτες ορισμένες γενετικές ομάδες.

Αντίθετα ελλιπή επίπεδα Cu στους πνεύμονες σχετίζονται με μείωση της δράσης της δισμουτάσης του υπεροξειδίου των πνευμόνων καθώς και μεταβολές στη σύνθεση ή την αποδόμηση συστατικών λιπιδίων και πρωτεϊνών από τα κύτταρα του πνεύμονα (Richmond VL. et al., 1993, Jenkinson SG. et al., 1984).

Επίσης δεν υπάρχει σημαντική διαφορά στη συσσώρευση Zn (εικ. 49) στις περισσότερες ομάδες σε όλη τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου. Τα μικρότερα επίπεδα ωστόσο εμφανίζει η ομάδα Π1 σχεδόν σε όλη τη διάρκεια της πειραματικής έκθεσης, γεγονός που μπορεί να επδρά αρνητικά στην αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού λόγω μείωσης της δράσης της δισμουτάσης του υπεροξειδίου και της επαγωγής των μεταλλοθειονινών των πνευμόνων με αντικατάσταση των απαραίτητων ιχνοστοιχείων όπως Cu και Zn (Kubow S. et al., 1986).

Τελικά από τα παραπάνω προέκυψε ότι για τους πνεύμονες οι συγκεντρώσεις των μετάλλων Pb και Cd είναι μεγαλύτερες στην ομάδα Π4. Η επιβάρυνση είναι μεγαλύτερη το τελευταίο εξάμηνο και ειδικότερα για τον Pb ($p=0.001$ για το Pb, $p=0.03$ για το Cd). Παθολογοανατομικά τα ζώα της ομάδας Π1 και λιγότερο της Π4 εμφάνισαν σοβαρές εναποθέσεις σωματιδίων, ίνωση και φλεγμονώδεις αλλοιώσεις.

Κεντρικό νευρικό σύστημα

Η επίδραση των μετάλλων στο κεντρικό νευρικό σύστημα εκτιμήθηκε αποκλειστικά από την συσσώρευση τους στον εγκέφαλο στις διάφορες ομάδες και χρόνους της μελέτης.



Η επίδραση του Καδμίου (Cd)

Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 50) παρατηρήθηκε ότι τη μικρότερη συσσώρευση Cd στον εγκέφαλο παρουσιάζουν οι ομάδες Π5(ελέγχου), Π3(1:10), και Π2(1:5). Τη μεγαλύτερη συσσώρευση εμφανίζουν οι ομάδες Π4(pH:7.0), ιδίως μετά το 18^ο μήνα πειραματισμού, και η ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα). Επίσης την τελευταία περίοδο πειραματισμού υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) μεταξύ των συγκεντρώσεων Cd για τις ομάδες Π1 - Π5, ενώ δεν υπάρχει σημαντικά στατιστική διαφορά μεταξύ των ομάδων Π4 - Π5.

Αρκετοί ερευνητές έχουν αναφέρει ότι η είσοδος Cd στον οργανισμό έχει τοξικές επιδράσεις και προκαλεί βλάβες τόσο στο κεντρικό νευρικό σύστημα όσο και στον εγκέφαλο. Έχουν αναφερθεί επιδράσεις στα βασικά γάγγλια καθώς και εμφάνιση νόσου Parkinson (Okuda B. et al., 1997). Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας (εικ. 50) παρατηρούμε ότι η ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) παρουσιάζει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση Cd. Όπως έχει αναφερθεί από τους Tin T. et al., 1998, το Cd επηρεάζει δευτερογενώς τον εγκέφαλο μέσω του μεταβολισμού του Zn καθώς και μηχανισμών που εμπλέκουν τη μεταλλοθειονίνη III του εγκεφάλου, η οποία έχει κύρια νευρορυθμιστικές επιδράσεις (Hiraldo J. et al., 1995, Choudhuri S. et al., 1996, Johnson FM., 1998). Παράλληλα φαίνεται, από την εικόνα 53, ότι η συγκέντρωση Zn στην ομάδα Π1 μειώνεται ιδιαίτερα, την περίοδο από 6 - 18 μήνες πράγμα που πιθανά ενισχύει την τοξική δράση του Cd στον εγκέφαλο.

Η επίδραση του Μολύβδου (Pb)

Οι συγκεντρώσεις Pb στον εγκέφαλο (εικ. 51) δείχνουν ότι δεν υπάρχει σημαντική συσσώρευση Pb για την ομάδα Π5(ελέγχου), ενώ υπάρχει μικρή συσσώρευση για τις Π2(1:5), Π3(1:10). Η ομάδα Π1 φαίνεται να έχει τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε όλες τις περιόδους πειραματισμού. Επίσης υπάρχει στατιστική διαφορά αρκετά σημαντική ($p < 0.05$) μεταξύ των ομάδων Π1 - Π5 σχεδόν σε όλες τις περιόδους πειραματισμού.

Είναι γνωστό ότι η χρόνια έκθεση πειραματοζώων σε Pb έχει επιπτώσεις στη συμπεριφορά, προκαλεί βλάβες στη μάθηση και στην ανάπτυξη της εξερευνητικής συμπεριφοράς και επίσης σε νεογνά έχουν αναφερθεί καθυστερήσεις στην ανάπτυξη της κατασκευής του εγκεφαλικού φλοιού (Bull RJ. et al., 1983, Struzynska L. et al., 1997). Από τα αποτελέσματά μας η ομάδα Π1(αυτούσιο λύμα) παρουσιάζει τη μεγαλύτερη συσσώρευση Pb στον εγκέφαλο. Οι Hertz MM. et al., 1981, και Singh AK. et al., 1989, ανέφεραν ότι συστηματική χορήγηση μικρών δόσεων Pb είναι ικανή να προκαλέσει δυσλειτουργίες στον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Ακόμη οι Johnson FM., 1998 ανέφεραν ότι ο Pb του εγκεφάλου επηρεάζει τη μεταφορά ντοπαμίνης σε επίμυες ενώ η αυξημένη συγκέντρωση δ-αμινολεβουλινικού οξέος που προέρχεται από την αναστολή της βιοσύνθεσης της αίμης λόγω Pb, πιστεύεται ότι έχει νευρο-τοξικές επιδράσεις και παρεμβαίνει βλαπτικά στις εγκεφαλικές λειτουργίες.

Η επίδραση του Χαλκού (Cu)

Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 52) βλέπουμε ότι δεν υπάρχουν σημαντικές μεταβολές στη συσσώρευση Cu μεταξύ των ομάδων στη διάρκεια της πειραματικής περιόδου. Οι συγκεντρώσεις Cu για τις ομάδες Π5(ελέγχου), Π3(1:10), Π2(1:5), Π4 (pH:7.0) και Π1(αυτούσιο λύμα) κυμάνθηκαν μεταξύ 2.15 $\mu\text{g/g}$ - 5.13 $\mu\text{g/g}$. Η συγκέντρωση Cu στην ομάδα Π1 εμφανίζεται μειωμένη για την περίοδο 0 - 18 μήνες.

Η μη επαρκής ποσότητα Cu στον εγκέφαλο έχει δείχθει ότι μπορεί να προκαλέσει σοβαρές επιδράσεις όπως μείωση στο μέγεθος και το βάρος του εγκεφάλου, ατροφία στο ραβδωτό σώμα και ανωμαλίες στην ανάπτυξη των νευρώνων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας η συγκέντρωση του Cu στους εγκεφάλους των ζώων της ομάδας Π1(αυτούσιο λύμα) ήταν αρκετά μειωμένη σε σχέση με τις άλλες ομάδες για το μεγαλύτερο μέρος του πειράματος. Οι Kimoto S. et al., 1995 ανέφεραν ότι η μειωμένη συγκέντρωση Cu στον εγκέφαλο προκαλεί μείωση της δράσης της υπεροξειδίου της δισμουτάσης (που περιέχει Cu-Zn) με αποτέλεσμα την ελάττωση της άμυνας κατά των παραγομένων ελευθέρων ριζών. Επίσης μεταβολές στη συγκέντρωση Cu στον εγκέφαλο έχουν σχετισθεί με τη νόσο του Parkinson (Sun SH. et al., 1992, O'Dell BL. et al., 1993).

Η επίδραση του Ψευδαργύρου (Zn)

Από την εικόνα 53, φαίνεται ότι δεν υπάρχουν σαφείς διαφορές στη συσσώρευση Zn μεταξύ των ομάδων καθόλη την διάρκεια της έκθεσης. Παρατηρούνται επίσης μειωμένα επίπεδα Zn στην ομάδα Π1 έως το 18^ο μήνα πειραματισμού.

Οι O'Dell BL. et al., 1993 ανέφεραν ότι σε πειράματα με ινδικά χοιρίδια και κοτόπουλα που είχαν μειωμένη συγκέντρωση Zn στον εγκέφαλο παρουσιάζονται νευρολογικές επιπτώσεις, περιφερική νευροπάθεια και διαταραχές στη στάση και τη μετακίνηση. Επίσης μπορεί να προκληθούν σημαντικές βλάβες στο DNA καθώς και στη δράση της μεταλλοθειονίνης III του εγκεφάλου η οποία ασκεί προστατευτικό ρόλο ενάντια στο οξειδωτικό στρες του εγκεφάλου (Ebadi M. et al., 1996, Ahn YH. et al., 1998).

Από την ανάλυση των ευρημάτων στο σύστημα αυτό προέκυψε ότι, στον εγκέφαλο το Cd εμφανίζει σταθερά αυξημένη συγκέντρωση στην ομάδα Π1 ($p=0.026$) όπως και ο Pb ($p=0.05$) μετά από 24 μήνες έκθεση.

Μυοσκελετικό σύστημα

Οι επιπτώσεις των μετάλλων στο μυοσκελετικό σύστημα εκτιμήθηκαν κυρίως από την απώλεια βάρους των πειραματοζώων και τις συσσωρεύσεις των μετάλλων στο μυϊκό ιστό των πειραματοζώων.

Η χορήγηση λύματος βιολογικού καθαρισμού έχει σημαντικές επιπτώσεις στο βάρος των πειραματοζώων ιδίως για τις ομάδες Π1(αυτούσιο λύμα) και Π4(pH:7.0) όπου παρατηρείται σημαντική μείωση μετά το 18^ο μήνα πειραματισμού (εικ. 8). Οι άλλες ομάδες δεν εμφάνισαν σημαντική απώλεια βάρους κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου. Η μείωση του σωματικού βάρους ως δείκτης ανάπτυξης των επίμυων που δέχονται χρόνια έκθεση σε μέταλλα όπως Pb και Cd έχει αναφερθεί από αρκετούς ερευνητές (Pastor J. et al., 1993, Zakrzewska M. et al., 1993).

Η επίδραση του Καδμίου (Cd)

Παρατηρείται ότι κατ' αρχήν το οστό περιέχει περίπου δεκαπλάσια συγκέντρωση Cd σε σχέση με τους άλλους ιστούς και τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις Cd εμφανίζουν οι ομάδες Π1 και Π4 σε όλες τις περιόδους πειραματισμού (εικ. 54). Ιδιαίτερα αυξημένος εμφανίζεται ο ρυθμός συσσώρευσης για την ομάδα Π1 την περίοδο από 6-12 μήνες. Ακόμη υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά για τη χρονική περίοδο των 24 μηνών μεταξύ των ομάδων Π1- Π5 καθώς και μεταξύ Π4 - Π5 ($p<0.05$).

Στους μύες της κνήμης (εικ. 58) παρουσιάζεται μικρή συσσώρευση για τις ομάδες Π5(ελέγχου), Π3(1:10) και Π2(1:5). Για τις άλλες ομάδες που δέχονταν αυτούσιο ή οξινισμένο τα λύμα του βιολογικού καθαρισμού, οι συσσωρεύσεις ήταν σε μεγαλύτερα επίπεδα. Την τελευταία περίοδο πειραματισμού υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στη συσσώρευση ($p < 0.05$) μεταξύ των ομάδων Π1-Π5 και Π4 -Π5.

Η χρόνια έκθεση σε Cd είναι γνωστό ότι οδηγεί σε συσσώρευση του μετάλλου στα οστά και μπορεί να προκαλέσει ασθένειες όπως την Ιται – Ιται κατά την οποία υπάρχει μεγάλη μείωση στην πυκνότητα των οστών, ενώ η αύξηση της συγκεντρώσεως Cd στο οστό προκαλεί μείωση του λόγου του ασβεστίου προς τον ψευδάργυρο (Kido T. et al., 1989, Honda R. et al., 1997). Σε καλλιέργειες οστεοβλαστών όπου δοκιμάστηκαν οι επιπτώσεις αρκετών μετάλλων στη δράση της αλκαλικής φωσφατάσης, βρέθηκε ότι το Cd έχει τη μεγαλύτερη ανασταλτική δράση και προκαλεί επίσης μείωση στα επίπεδα του ενδοκυττάρου Zn (Suzuki Y. et al., 1989, Dohi Y. et al., 1993).

Η επίδραση του Μολύβδου(Pb)

Ο Pb εμφανίζεται πολύ αυξημένος στα οστά σε σχέση με τις συγκεντρώσεις στους άλλους ιστούς (σε δεκαπλάσια συγκέντρωση) και κύρια εμφανίζεται αυξημένος στην ομάδα Π1. Υπάρχει σημαντική αύξηση του ρυθμού συσσώρευσης για τις ομάδες Π1 (σε όλη τη διάρκεια του πειράματος) (εικ. 55), όπως και για την Π4 (για την περίοδο 0 – 12 μήνες). Επίσης υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) μεταξύ της Π1 και της Π5 κατά την περίοδο 18 - 24 μήνες έκθεσης.

Στους μύες της κνήμης (εικ. 59) φαίνεται ότι υπάρχει σημαντικός ρυθμός συσσώρευσης του Pb για την ομάδα Π1 για την περίοδο από 0 έως 12 μήνες όχι όμως και στατιστικά σημαντική διαφορά.

Η συγκέντρωση Pb στα οστά αποτελεί δείκτη της χρόνιας έκθεσης του οργανισμού και επίσης σημαντική πηγή Pb από όπου απελευθερώνομενος (προς τον οργανισμό) προκαλεί υπέρταση, νεφρικές βλάβες και διαταραχές στον ψυχισμό – συμπεριφορά (Johnson FM., 1998, Hu H. et al., 1998). Οι Buchhein K. et al., 1998 ανέφεραν ότι χρόνια χορήγηση Pb μέσω της διαίτας προκάλεσε μυοπάθεια στα πειραματόζωα, ενώ οι Al Dhaheri AH. et al., 1996 ανέφεραν ότι η χρόνια χορήγηση μικρών δόσεων Pb επηρεάζει τη μυϊκή συστολή.

Η επίδραση του Χαλκού (Cu)

Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 56) βλέπουμε ότι δεν υπάρχουν σημαντικές μεταβολές των συγκεντρώσεων Cu στα οστά και τους μύες της κνήμης μεταξύ των ομάδων στη διάρκεια της πειραματικής περιόδου.

Ο Cu αποτελεί απαραίτητο ιχνοστοιχείο για τη σωστή ανάπτυξη και λειτουργία των συστημάτων και του οργανισμού γενικότερα. Έχει αναφερθεί από πολλούς ερευνητές ότι η μείωση της συγκέντρωσης Cu προκαλεί βλάβες στα οστά όπως οστεοπόρωση λόγω ελάττωσης της βασικής ουσίας των οστών (Yee CD. et al., 1995). Τα αποτελέσματά μας εικόνες 56 και 60, έδειξαν σχετικά μικρές συγκεντρώσεις Cu στα οστά και τους μύες των ζώων της ομάδας Π1(αυτούσιο λύμα) σε σύγκριση με τις άλλες ομάδες. Οι O'Dell BL. et al., 1976 ανέφεραν ότι η έλλειψη Cu επιδρά στο κολλαγόνο των οστών και καθυστερεί την ανάπτυξή τους, γίνονται πιο εύθραυστα και επίσης προκαλούνται παρεμποδίσεις στη λειτουργία των οστεοβλαστών και οστεοκλαστών. Σε καλλιέργειες μυϊκών κυττάρων έχει αναφερθεί ότι μείωση στη συγκέντρωση Cu επηρεάζει τη σωστή λειτουργία της αντλίας Na^+/K^+ ΑΤΡάσης και προκαλεί αύξηση των συγκεντρώσεων Na^+ και Ca^{+2} (Benders AA. et al., 1994).

Η επίδραση του Ψευδαργύρου (Zn)

Οι μεταβολές της συγκέντρωσης Zn στο οστό της κνήμης (εικ. 57) κυμαίνονται από 165 – 670 µg/g υγρού βάρους ιστού. Η συγκέντρωση Zn εμφανίζει σημαντικό ρυθμό συσσώρευσης στην ομάδα Π1 στα αρχικά στάδια του πειράματος, από 0 – 12 μήνες.

- Από τα αποτελέσματά μας (εικ. 61) βλέπουμε ότι δεν υπάρχουν σημαντικές μεταβολές των συγκεντρώσεων Zn στο μυ της κνήμης.

Παρατηρείται ότι η συγκέντρωση Zn είναι σημαντικά αυξημένη στο οστό της κνήμης το διάστημα των 12 πρώτων μηνών, ενώ για τα επόμενο διάστημα υπάρχει ταχεία μείωση της συγκέντρωσης. Οι Kaji T. et al., 1990 ανέφεραν ότι ο Zn είναι προστατευτικός ενάντια στις δράσεις του Cd, το οποίο προκαλεί αύξηση της ασβεστοποίησης. Από καλλιέργειες οστεοβλαστών έχει διαπιστωθεί ότι η παρουσία Zn προκαλεί αναστολή στη δράση του Cd ακόμη και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις της τάξεως των 10-20µM (Suzuki et al., 1989). Οι Moonga BS. et al., 1995 ανέφεραν ότι οι οστεοκλάστες είναι πολύ ευαίσθητοι στην παρουσία Zn και μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά την επαναπορρόφηση των οστών και κατά συνέπεια την ανάπτυξη τους.

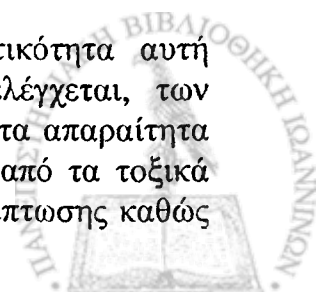
Από τις συγκεντρώσεις των μετάλλων στο μυοσκελετικό σύστημα φαίνεται ότι η άθροιση Cd είναι σημαντική στα οστά της κνήμης για τις ομάδες Π1(p=0.002) και Π4 (p=0.008) καθώς και η συγκέντρωση Pb για την Π1(p=0.015). Τα δύο μέταλλα εμφανίζονται σε δεκαπλάσιες συγκεντρώσεις από ότι στους άλλους ιστούς και ο ρυθμός συσσώρευσης είναι υψηλός στους 12 πρώτους μήνες έκθεσης. Η μεταβολή του σωματικού βάρους αποτελεί κύριο δείκτη της ανάπτυξης του μυοσκελετικού συστήματος των οργανισμών. Η μείωση του βάρους είναι σημαντική μετά τον 18^ο μήνα έκθεσης στις ομάδες Π1 (p<0.01) και Π4 (p<0.01) ενώ συγχρόνως φαίνεται ότι έχει αντιστρόφως ανάλογη σχέση με την αραίωση του χορηγούμενου στους επίμυες λύματος.

Από τη συνολική εκτίμηση της συσσώρευσης των μετάλλων (πιν. 29 α,β,γ,δ) φαίνεται ότι ορισμένοι ιστοί στα πειραματόζωα του πρωτοκόλλου μας εμφανίζουν εγγενώς μεγαλύτερη τάση συγκράτησης συγκεκριμένων μετάλλων π.χ.

Καρδιά: συγκράτηση Cd και Pb
Ήπαρ: συγκράτηση Pb και Cd
Νεφροί: συγκράτηση Pb και Cu
Σπλήνας: συγκράτηση Cd
Πνεύμονες: συγκράτηση Cd, Pb και Cu
Ουροδ. κύστη: συγκράτηση Zn, Cd

Παρόμοιες τάσεις άθροισης μετάλλων διαφαίνονται και στην ομάδα ελέγχου, οι οποίες στη συνέχεια ενισχύονται σύμφωνα με τη σειρά Π1>Π4>Π2>Π3. Στην διεθνή βιβλιογραφία επίσης τα μέταλλα χαρακτηρίζονται για την εκλεκτική τους συσσώρευση π.χ. ο Pb στο αίμα και τα οστά, το Cd στους νεφρούς και τους πνεύμονες και ο Cu στο ήπαρ.

Από τα αποτελέσματά μας ώστόσο φαίνεται ότι η εκλεκτικότητα αυτή διαφοροποιείται συναρτήσει του είδους του βιοσυστήματος που ελέγχεται, των συνθηκών και της διάρκειας της έκθεσης. Είναι εμφανές (πιν. 29) ότι τα απαραίτητα ιχνοστοιχεία (Cu, Zn) έχουν πολύ μικρότερους δείκτες συσσώρευσης από τα τοξικά (Pb, Cd), ιδιαίτερα ο Zn, ο οποίος οριακά εντάσσεται στα μέταλλα μετάπτωσης καθώς



είναι ένα ιδιαίτερα σταθερό μέταλλο. Ο επίμυς εξάλλου ένα ζώο γενετικά εξοπλισμένο για διαβίωση σε λύματα αποτελεί ένα μάλλον ανθεκτικό μοντέλο βιοσυστήματος για τις συνθήκες πειραματισμού μας. Ωστόσο τα παθολογοανατομικά, τα λειτουργικά ευρήματά μας καθώς και η επιβίωση των ζώων καταδεικνύουν την μειωμένη δυνατότητα προσαρμογής τους σε συνθήκες επιβάρυνσης της φυσιολογίας τους με μέταλλα.

Από την άλλη πλευρά τροποποίηση των συνθηκών όπως χορήγηση αραιωμένου και μειωμένης αλκαλικότητας λύματος βελτιώνει σημαντικά την ικανότητα προσαρμογής των πειραματοζώων.

Τέλος είναι εμφανές από τα δεδομένα κυρίως της συσσώρευσης των μετάλλων ότι η χρόνια έκθεση σ' αυτά αυξάνει τις επιπτώσεις στα λειτουργικά συστήματα των ζώων, παρά το ότι μετά τους 18 μήνες έκθεσης φαίνεται ότι αρκετά από τα ζώα αντιρροπών προσαρμοστικά ορισμένες από αυτές. Δηλαδή παρατηρείται ότι στα ζωτικά όργανα πνεύμονες, νεφροί και ήπαρ, στα ζώα που θυσιάστηκαν σε σχέση με αυτά που απεβίωσαν εμφανίζεται μικρότερη ιστοπαθολογική επιβάρυνση.



8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Η επιβίωση επίμυων μειώνεται σημαντικά μετά από χρόνια χορήγηση ως πόσιμου νερού επεξεργασμένου λύματος βιολογικού καθαρισμού, με pH: ~8.0.

Η επιβίωσή τους βελτιώνεται σημαντικά κατόπιν :

A) έκθεσης σε λύμα με pH<7.0 πιθανά λόγω μικρότερης βιοδιαθεσιμότητας των τοξικών μετάλλων Cd, Pb και Cu.

B) αραιώσης του λύματος 1:10 ή/και 1:5.

2. Η ανοσολογική απόκριση των οργανισμών επηρεάζεται άμεσα ή έμμεσα από τα μέταλλα που περιέχονται στο πόσιμο λύμα καθώς τα λεμφοκύτταρα επίμυων που εκτέθηκαν στο λύμα παρουσίασαν σημαντική μείωση ($p<0.01$) ενώ το Cd και ο Pb εμφάνισαν σημαντική συσσώρευση στον σπλήνα, ($p<0.016$ και $p<0.05$, αντίστοιχα) ένα όργανο του Δ.Ε.Σ. (δικτυοενδοθηλιακού συστήματος) επιφορτισμένο με ανοσορυθμιστική λειτουργία.

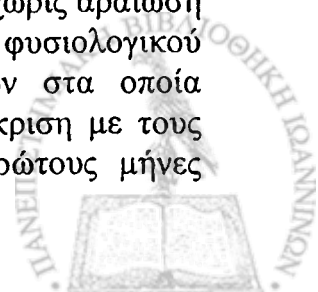
3. Η νεφρική λειτουργία μετά τη χρόνια χορήγηση του λύματος ως πόσιμου νερού στους επίμυες, εμφανίζεται διαταραγμένη με αύξηση της απέκκρισης Pb στα ούρα και κατακράτηση Cu καθώς και αύξηση της κρεατινίνης κυρίως στα ζώα που έλαβαν λύμα χωρίς αραιώση (ομάδες Π1 και Π4), ενώ στο νεφρικό ιστό οι αυξημένες συγκεντρώσεις Pb, Cd και Cu συνοδεύονται από σοβαρές ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις.

4. Η ηπατική λειτουργία εμφανίζεται ελαφρά επηρεασμένη στους επίμυες που έλαβαν λύμα με pH~8.0 (Π1 ομάδα), μεταξύ 18 – 24 μηνών καθώς εμφανίζεται αύξηση της ALT ($p<0.05$). Στο τέλος της περιόδου έκθεσης οι επίμυες των ομάδων που έλαβαν λύμα χωρίς αραιώση pH~8.0 ή pH<7.0 (ομάδες Π1, Π4) εμφανίζουν στο ήπαρ τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις Cd, Pb και λιγότερο Cu. Παθολογοανατομικά τα ζώα που απεβίωσαν μετά 18 μήνες έκθεση εμφανίζουν εναποθέσεις μετάλλων που συνδέονται με σοβαρές εκφυλίσεις και νεκρώσεις ηπατοκυττάρων.

5. Η καρδιακή λειτουργία εμφανίζει διαταραχές αγωγής του τύπου των αρρυθμιών, αποκλεισμών και S-T πτώσεων, που σχετίζονται με σημαντικά αυξημένες συγκεντρώσεις Pb ($p<0.03$) και Cd ($p<0.016$) στον καρδιακό ιστό (κυρίως στις ομάδες Π1 και Π4).

6. Στους πνεύμονες οι συγκεντρώσεις των μετάλλων Pb και Cd είναι μεγαλύτερες στην ομάδα Π4. Η επιβάρυνση είναι μεγαλύτερη το τελευταίο εξάμηνο και ειδικότερα για τον Pb ($p=0.001$ για το Pb, $p=0.03$ για το Cd). Παθολογοανατομικά τα ζώα της ομάδας Π1 και λιγότερο της Π4 εμφάνισαν σοβαρές εναποθέσεις σωματιδίων, ίνωση και φλεγμονώδεις αλλοιώσεις.

7. Το μυοσκελετικό σύστημα των επίμυων εμφανίζει μειωμένη ανάπτυξη όπως φαίνεται από την μείωση του βάρους στα ζώα που έλαβαν λύμα χωρίς αραιώση (Π1: $p<0.01$, Π4: $p<0.01$) πιθανότατα λόγω διαταραχής του φυσιολογικού κύκλου ανασύνθεσης – αποδόμησης (turn over) των οστών στα οποία παρατηρούνται δεκαπλάσιες συγκεντρώσεις Cd και Pb σε σύγκριση με τους άλλους ιστούς και υψηλοί ρυθμοί συσσώρευσης τους 12 πρώτους μήνες έκθεσης.



8. Οι ιστοί και όργανα επίμυων που τους χορηγήθηκε επί 24 μήνες επεξεργασμένο λύμα ως πόσιμο νερό εμφανίζουν εκλεκτικά μεγαλύτερους δείκτες συσσώρευσης μετάλλων συγκριτικά προς την ομάδα ελέγχου σύμφωνα με τα παρακάτω:

| | | |
|--------------|------------------------|------------|
| Σπλήνας | Cd: 94.4% | - Π1ομάδα |
| Νεφροί | Pb: 131.6%, Cu: 100.9% | - Π1 ομάδα |
| Ουροδ. κύστη | Cd: 87.7% | - Π1 ομάδα |
| Όρχεις | Pb :73.2% | - Π1 ομάδα |
| Ήπαρ | Pb: 95.8%, Cu:53.5% | - Π1 ομάδα |
| Καρδιά | Cd: 145% | - Π1 ομάδα |
| Πνεύμονες | Cd: 110%, Pb: 92.9% | - Π4 ομάδα |
| Οστά | Cd: 103.1% | - Π1 ομάδα |
| Μύες | Cu: 76.1% | - Π1 ομάδα |

Είναι εμφανές ότι σε $pH < 7.0$ μειώνεται η πρόσληψη των μετάλλων σε όλους τους ιστούς πλην των πνευμόνων. Τα απαραίτητα ιχνοστοιχεία Zn, Cu και ιδίως ο Zn εμφανίζουν πολύ μικρότερους δείκτες συσσώρευσης από τα τοξικά Pb, Cd.

9. Από τα παθολογοανατομικά ευρήματα συμπεραίνεται ότι ένας αριθμός ζώων επιτυγχάνει αντισταθμιστικές προσαρμογές στο stress από τα μέταλλα με αποτέλεσμα μικρότερες συσσωρεύσεις μετάλλων, λιγότερες ιστικές βλάβες και μεγαλύτερη επιβίωση σε σύγκριση με άλλα ζώα της ίδιας ομάδας.
10. Συνολικά συμπεραίνεται ότι η χρόνια χορήγηση επεξεργασμένου λύματος σε επίμυες, ως πόσιμο νερού εκθέτει τους οργανισμούς σε stress λόγω των εμπεριεχομένων βαρέων μετάλλων, διαταράσσει τις φυσιολογικές λειτουργίες και μειώνει τις δυνατότητες προσαρμογής των ζώων.



ΒΙΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΩΣ ΠΟΣΙΜΟΥ ΝΕΡΟΥ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ ΕΚΡΟΗΣ Β'ΒΑΘΜΙΟΥ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ, ΣΕ ΕΠΙΜΥΕΣ, ΜΕ ΕΜΦΑΣΗ ΣΤΙΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή

Ο ρόλος των μετάλλων στα βιοσυστήματα είναι καθοριστικός, είτε δρουν σαν απαραίτητα ιχνοστοιχεία όπως ο Zn και ο Cu είτε σαν τοξικές χημικές ουσίες όπως ο Pb και το Cd.

Τα μέταλλα εισέρχονται και απορροφώνται από τη γαστρεντερική οδό με την τροφή και το νερό, από την αναπνευστική οδό με τον εισπνεόμενο αέρα και από το δέρμα.

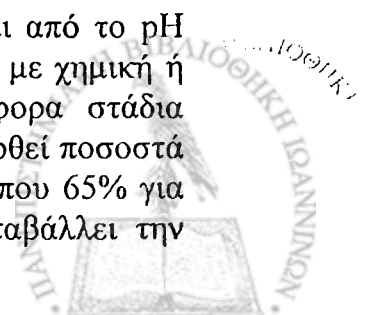
Τα απαραίτητα ιχνοστοιχεία όπως τα Zn, Cu, Co, Mn, V, Mo, Se, Cr συμμετέχουν σε ενζυμικά συστήματα ως δομικά ή λειτουργικά στοιχεία ή δρουν σαν καταλύτες, κυρίως λόγω της ικανότητάς τους να δέχονται ή να προσφέρουν ηλεκτρόνια. Η έλλειψή τους οδηγεί σε δυσγενεσίες και δυσλειτουργίες ή νόσους ανάλογες προς τη σοβαρότητα της έλλειψης και την ηλικία εγκατάστασης της έλλειψης.

Τοξικά μέταλλα όπως τα Pb, Cd, Hg, As εκτοπίζουν τα απαραίτητα ιχνοστοιχεία και αποκλείουν ή τροποποιούν δραστικές ομάδες βιομορίων κυρίως λόγω της ισχυρής τάσης δέσμευσης των O₂, N και S που εμφανίζουν. Οδηγούν σε μεταλλάξεις λόγω της αλληλεπίδρασής τους με τις νουκλεοφιλικές θέσεις των νουκλεοπρωτεϊνικών μορίων. Ορισμένα όργανα ή συστήματα αποτελούν στόχους των τοξικών μετάλλων π.χ. το Cd πλήττει ιδιαίτερα το ουρογεννητικό και αναπνευστικό σύστημα, ενώ ο Pb το ανοσοαιματολογικό και το ερειστικό σύστημα. Οι οργανισμοί έχουν αναπτύξει προσαρμοστικά μηχανισμούς αποτοξίκωσης από τα βαρέα μέταλλα κυρίως μέσω αποθήκευσης τους σε πρωτεΐνες όπως π.χ. οι μεταλλοθειονίνες.

Ο κύκλος πρόσληψης, απορρόφησης, μεταφοράς, απέκκρισης ή αποθήκευσης των απαραίτητων ιχνοστοιχείων Zn, Cu αλλά και οι πιθανές τοξικές τους δράσεις σε περίπτωση υπερβολικής έκθεσης του οργανισμού σε αυτά τα μέταλλα είναι σημαντικά στοιχεία για την εκτίμηση του βιολογικού τους ρόλου. Επίσης η απορρόφηση, η κατανομή, η τοξικότητα και τα όργανα στόχοι καθώς και η απέκκριση των τοξικών μετάλλων Pb και Cd είναι απαραίτητα για την εκτίμηση των επιδράσεών τους στον οργανισμό.

Βαρέα μέταλλα περιέχονται συνήθως σε μεγάλες συγκεντρώσεις στα βιομηχανικά και οικιστικά λύματα. Οι μονάδες επεξεργασίας των λυμάτων είναι 1^{ου}, 2^{ου} και 3^{ου} βαθμού επεξεργασίας όπου μετά από χλωρίωση τα λύματα προωθούνται προς ύδρευση, άρδευση ή σε επιφανειακές απορροές εσωτερικών υδάτων. Τα μέταλλα στα αστικά λύματα εμφανίζονται με διάφορες μορφές (ιόντα, σύμπλοκα, κολλοειδή κ.ά.) και σε κυμαινόμενες συγκεντρώσεις κατά τη διάρκεια του 24ώρου, συνήθως 3 - 5 φορές μεγαλύτερες την ημέρα έναντι της νύχτας.

Η βιοδιαθεσιμότητα και η διαλυτότητα των μετάλλων εξαρτάται από το pH και τη μορφή τους. Η απομάκρυνση των μετάλλων από το λύμα γίνεται με χημική ή ηλεκτροστατική δέσμευσή τους στη λάσπη των λυμάτων στα διάφορα στάδια επεξεργασίας, κυρίως όμως στο στάδιο της ενεργού ιλύος. Έχουν αναφερθεί ποσοστά απομάκρυνσης άνω του 70% για μέταλλα όπως τα Cu, Cd, Pb και περίπου 65% για τον Zn. Η τοξικότητα των μετάλλων που παραμένουν στο λύμα μεταβάλλει την



αποδοτικότητα των μονάδων επεξεργασίας κυρίως διότι επιτρέπει την είσοδο των μετάλλων στις τροφικές αλυσίδες με αποτέλεσμα την ανάπτυξη έντασης (stress) στους οργανισμούς και τη μεταβολή της φυσιολογίας των ζωικών συστημάτων.

Υλικά και μέθοδοι

Στην παρούσα διατριβή χρησιμοποιήθηκαν 105 άρρενες επίμυες σε συνθήκες εκτροφείου με ελεύθερη πρόσβαση σε τροφή και νερό, για περίοδο 30 μηνών. Τα πειραματόζωα είχαν αρχικό βάρος 170 – 210g κατανεμήθηκαν σε 5 πειραματικές ομάδες, και χορηγήθηκε πόσιμο νερό ως εξής:

- I. Ομάδα Π1: χορήγηση λύματος βιολογικού καθαρισμού με pH ~ 8.0.
- II. Ομάδα Π2: χορήγηση αραιωμένου λύματος βιολογικού καθαρισμού με νερό της ύδρευσης σε αναλογία 1:5.
- III. Ομάδα Π3: χορήγηση αραιωμένου λύματος βιολογικού καθαρισμού με νερό της ύδρευσης σε αναλογία 1:10.
- IV. Ομάδα Π4: χορήγηση αυτούσιου λύματος βιολογικού καθαρισμού με pH: <7.0 (ρύθμιση του pH με διάλυμα υδροχλωρίου)
- V. Ομάδα Π5 (ομάδα ελέγχου): χορήγηση νερού της ύδρευσης της πόλης.

Το επεξεργασμένο λύμα που χρησιμοποιήθηκε ως πόσιμο νερό στα ζώα αναλύθηκε για μέταλλα ολικά και διαλυμένα όπως και το νερό της δημοτικής ύδρευσης που χρησιμοποιήθηκε για τις αραιώσεις του λύματος.

Τρία (3) ζώα από κάθε ομάδα θυσιάζονταν ανά εξάμηνο μετά από ηλεκτροκαρδιογραφικό έλεγχο, λήψη αίματος και ούρων 24ωρου. Δέκα ιστοί και όργανα: σπλήνας, ήπαρ, καρδιά, νεφροί, όρχεις, ουροδόχο κύστη, εγκέφαλος, πνεύμονες, οστό και μυς απομακρυνόταν για τον προσδιορισμό των μετάλλων Cu, Zn, Pb και Cd καθώς και για ιστοπαθολογοανατομικό έλεγχο με χρώση αιματοξυλίνης – ηωσίνης και ειδική για μέταλλα (Cu) χρώση ροδαμίνης.

Στο ολικό αίμα προσδιορίζονταν ο αριθμός των ερυθρών αιμοσφαιρίων, των λευκών αιμοσφαιρίων, της αιμοσφαιρίνης, του αιματοκρίτη, των αιμοπεταλίων κ.ά. Στον ορό προσδιορίζονταν οι αμινοτρανσφεράση της αλανίνης (ALT) και αμινοτρανφεράση του ασπαρτικού (AST), το σάκχαρο, η κρεατινίνη και οι συγκεντρώσεις των Cu, Zn, Pb και Cd. Τα τελευταία προσδιορίζονταν επίσης στα ούρα 24ωρου των θυσιαζόμενων ζώων, ενώ κάθε 15 ημέρες καταγραφόνταν το βάρος των ζώων και ο ρυθμός επιβίωσής τους.

Στα ζώα που απεβίωναν γινόταν καταγραφή του βάρους και αφαίρεση ιστών για προσδιορισμό ιχνοστοιχείων και ιστοπαθολογική διερεύνηση. Η αναισθητοποίηση των ζώων γινόταν με κεταμίνη και φεντανίλη σε δοσολογία 6 και 2.5 mg/Kg βάρους σώματος, αντίστοιχα.

Για τη συλλογή των ούρων χρησιμοποιήθηκαν μεταβολικοί κλωβοί. Τα ηλεκτροκαρδιογραφήματα έγιναν με ηλεκτροκαρδιογράφο FUKUDA DENSHI CARDIMAX FK12. Ο προσδιορισμός των μετάλλων στα βιολογικά δείγματα και ιστούς έγινε με φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης Perkin Elmer mod. 560.

Οι αναλύσεις του αίματος έγιναν σε αυτόματο αναλυτή αίματος CELL – DYN 3500, ABOIT DIAGNOSTICS σε ειδικό πρόγραμμα για επίμυες.



Αποτελέσματα και συμπεράσματα

Η εκροή του εργοστασίου βιολογικού καθαρισμού των Ιωαννίνων και ιδιαίτερα το ολικό κλάσμα σε σύγκριση με το νερό της ύδρευσης, περιέχει πενήντακονταπλάσιες ποσότητες Cu, 50% περίπου περισσότερο Zn, σχεδόν πενταπλάσια συγκέντρωση Pb και εικοσαπλάσια σχεδόν συγκέντρωση Cd.

Την μεγαλύτερη επιβάρυνση όσον αφορά την επιβίωση εμφάνισε η ομάδα Π1 δηλαδή η ομάδα με έκθεση σε αυτούσιο λύμα και pH:~8.0. Η μικρότερη επιβάρυνση που εμφανίζεται στην Π4 που έλαβε αυτούσιο λύμα αλλά με pH:<7.0, πιθανά οφείλεται στην μικρότερη διαλυτότητα του Cd λόγω μείωσης του pH. Η διαλυτότητα του Pb και του Cu είναι σχετικά μικρότερη σε pH:~7.0, ενώ αντίθετα σε όξινο pH τα Pb και Cu είναι πλέον ευδιάλυτα. Τα ευδιάλυτα μέταλλα είναι περισσότερο βιοδιαθέσιμα και συνεπώς δυνητικά περισσότερο τοξικά. Η επιβίωση των ζώων στις ομάδες Π2 (1:5), Π3 (1:10) και Π5 (ελέγχου) είναι παρόμοια. Προφανώς η αραίωση του λύματος και των πιθανών τοξικών ή μολυσματικών περιεχομένων ουσιών ευνοεί την επιβίωση.

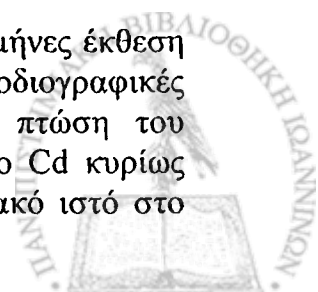
Οι αιματολογικοί δείκτες χρησιμοποιήθηκαν για την λειτουργική μελέτη του αιμοποιητικού συστήματος καθώς και οι συγκεντρώσεις των μετάλλων στον σπλήνα για τις επιπτώσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα. Οι ομάδες Π1 και Π4 παρουσίασαν στατιστικά σημαντική μείωση ($p<0.01$) των λεμφοκυττάρων σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου Π5, περί το τέλος των 24^{ων} μηνών έκθεσης. Την ίδια περίοδο το Cd και ο Pb εμφάνισαν σημαντική συσσώρευση στον σπληνικό ιστό ($p<0.016$, $p<0.05$ αντίστοιχα) στην ομάδα Π1 και επίσης την περίοδο 0-12 μήνες στην ομάδα Π4. Η άθροιση των μετάλλων στο σπλήνα και το μυελό πιθανά επηρεάζει τον πληθυσμό αλλά και την λειτουργικότητα των ανοσοκυττάρων με αποτέλεσμα την μεγαλύτερη ευαισθησία των ζώων σε άλλους τοξικούς ή λοιμογόνους παράγοντες του λύματος.

Η κρεατινίνη και οι συγκεντρώσεις των μετάλλων στα ούρα και τους ιστούς και η ιστοπαθολογία των νεφρών και της ουροδόχου κύστης ερευνήθηκαν για την εκτίμηση του νεφρικού στρες από τα μέταλλα.

Η κρεατινίνη δεν εμφανίστηκε σημαντικά επηρεασμένη στην Π1 ομάδα όπου και παρατηρήθηκε αυξημένη συγκέντρωση Cd καθόλη τη διάρκεια της έκθεσης ενώ η ιστοπαθολογική εικόνα έδειξε εναποθέσεις μετάλλων, εκφυλίσεις σωληναρίων και σπειραμάτων καθώς και φλεγμονώδη αντίδραση ιδίως μετά τον 18^ο μήνα. Οι ομάδες Π1 και Π4 εμφάνισαν αυξημένη απέκκριση Pb στα ούρα και αυξημένη συγκέντρωση του στα νεφρά. Μείωση στην απέκκριση Cu (50%) παρατηρείται στις ομάδες Π1 και Π4 το τελευταίο εξάμηνο πειραματισμού. Στην ουροδόχο κύστη τη μεγαλύτερη συσσώρευση Cu παρουσίασε η Π4 ενώ για το Pb η ομάδα Π1. Στους όρχεις ο Cu εμφάνισε τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στην ομάδα Π4.

Η ηπατική λειτουργία παρουσιάζεται ελαφρά επηρεασμένη μεταξύ 18-24 μηνών καθώς εμφανίζεται αύξηση της ALT στην ομάδα Π1. Στο τέλος της περιόδου έκθεσης οι ομάδες Π1 και Π4 έχουν στο ήπαρ τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις Cd, Pb και λιγότερο Cu. Παθολογοανατομικά τα ζώα που απεβίωσαν μετά από 18μηνη έκθεση εμφανίζουν εναποθέσεις μετάλλων συνοδευόμενες από σοβαρές εκφυλίσεις και νεκρώσεις ηπατοκυττάρων.

Η καρδιακή λειτουργία φαίνεται να διαταράσσεται μετά από 18 μήνες έκθεση ιδίως στην ομάδα Π1 όπου εμφανίζονται σε μερικές ηλεκτροκαρδιογραφικές απαγωγές αύξηση της καρδιακής συχνότητας, έκτακτες συστολές, πτώση του διαστήματος S-T καθώς και κολποκοιλιακοί αποκλεισμοί. Ο Pb και το Cd κυρίως στην Π1 εμφανίζουν στατιστικά αυξημένες συγκεντρώσεις στον καρδιακό ιστό στο



τέλος της έκθεσης ($p=0.013$, $p=0.016$ αντίστοιχα). Οι ηλεκτροκαρδιογραφικές διαταραχές που παρατηρούνται πιθανότατα οφείλονται στην εναπόθεση μετάλλων στο μυοκάρδιο.

Στους πνεύμονες οι συγκεντρώσεις των μετάλλων Pb και Cd είναι μεγαλύτερες στην ομάδα Π4. Η επιβάρυνση είναι μεγαλύτερη το τελευταίο εξάμηνο και ειδικότερα από τον Pb ($p=0.001$ για το Pb, $p=0.03$ για το Cd). Παθολογοανατομικά ωστόσο από τα ζώα που απεβίωσαν εκείνα της ομάδας Π1 και λιγότερο της Π4 εμφάνισαν σοβαρές εναποθέσεις μεταλλικών σωματιδίων, ίνωση και φλεγμονώδεις αλλοιώσεις.

Στον εγκέφαλο το Cd εμφανίζει αυξημένη συγκέντρωση στην ομάδα Π1 ($p=0.026$) όπως και ο Pb ($p=0.05$) μετά από 24 μήνες έκθεσης.

Η μεταβολή του σωματικού βάρους αποτελεί κύριο δείκτη της ανάπτυξης του μυοσκελετικού συστήματος των οργανισμών. Η μείωση του βάρους είναι σημαντική μετά τον 18^ο μήνα έκθεσης στις ομάδες Π1 ($p<0.01$) και Π4 ($p<0.01$) και συγχρόνως φαίνεται ότι έχει αντιστρόφως ανάλογη σχέση με την αραιώση του χορηγούμενου στους επίμυες λύματος. Επιπλέον οι συγκεντρώσεις των μετάλλων στα οστά αποτελούν τους καλύτερους δείκτες χρόνιας έκθεσης. Η άθροιση Cd είναι σημαντική στα οστά της κνήμης για τις ομάδες Π1 ($p=0.002$) και Π4 ($p=0.008$) καθώς και ο Pb ($p=0.015$ για την Π1). Τα δύο μέταλλα εμφανίζονται σε δεκαπλάσιες συγκεντρώσεις από ότι στους άλλους ιστούς και ο ρυθμός συσσώρευσης είναι υψηλός στους 12 πρώτους μήνες έκθεσης.

Συμπεραίνεται γενικά ότι: α) η χρόνια χορήγηση επεξεργασμένου λύματος ως πόσιμου νερού εκθέτει τους οργανισμούς σε stress σχετιζόμενο με τις συγκεντρώσεις μετάλλων και του pH του λύματος β) τα απαραίτητα μέταλλα εμφανίζουν πολύ μικρότερους δείκτες συσσώρευσης από τα τοξικά γ) ένας αριθμός ζώων επιτυγχάνει αντισταθμιστικές προσαρμογές στο stress από μέταλλα με αποτέλεσμα μεγαλύτερη επιβίωση και μικρότερες συσσωρεύσεις μετάλλων και οργανοσυστημικές βλάβες.



BIOPHYSIOLOGICAL EFFECTS OF SECONDARY BIOLOGICAL TREATMENT PLANT EFFLUENT ADMINISTRATION, AS DRINKING WATER, TO RATS IN RELATION TO HEAVY METALS ACCUMULATION.

DOCTORATE THESIS

Ioannis L. Papagiannis

Introduction

In biological systems, metals have a very determining role, acting either as essential trace elements like Zn and Cu or as toxic chemical substances like Pb and Cd. Metals become absorbed by the organisms through: respiratory system, gastrointestinal tract and skin.

Essential trace elements like Zn, Cu, Co, Mn, V, Mo, Se, Cr constitute structural, functional or catalytic parts of enzymatic systems, mainly because of their ability to receive or give electrons. Lack of these elements leads to dysgenesis, dysfunctions or diseases depending on the degree of the deficiency and the age deficiency's appearance.

Toxic metals like Pb, Cd, Hg, As, may displace the essential metals and block or modify active biomolecules mainly due to their ability to bind to O₂, N and S. They can also lead to mutations by interacting with nucleophilic parts of the nucleoproteins.

Certain organs or systems become metal targets. As an example, Cd can be harmful for urogenital and respiratory system, while Pb causes dysfunctions to immune and skeletal system. Storage in specific proteins like metallothionines is the main detoxification mechanism the organisms have developed.

The evaluation of the biological role of the essential trace elements may be estimated by examining their biological cycle of uptake, absorption, transport, secretion and storage and also by testing their potential toxicity after excessive exposure of the organisms to them.

Moreover, absorption, distribution, toxicity, secretion and the target organs are important for the estimation of the effects of Pb and Cd to organisms.

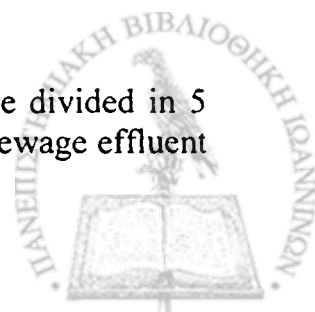
Heavy metals are often present at high concentrations in industrial and domestic effluents. Sewage are processed into first, second or third degree treatment and after chlorination the effluents may be used for drinking water, irrigation purposes or released to fresh waters. In domestic effluents, metals may appear in different chemical forms (ions, complexes, colloids) and present diurnal variations in their concentrations, with a 3-5 times higher concentration at day.

Bioavailability and solubility of metals depends on the pH and their chemical form. The metal removal from the effluent is carried out by chemical or electrostatic binding to the sludge during the various processing steps and especially during the active sludge step. More than 70% of Cu, Cd and Pb and more than 65% of Zn can be removed with this method. Toxicity of remaining metals alters the efficiency of the treatment plants, mainly because metals enter the food chain and cause stress and changes in the physiology of living systems.

Materials and Methods

In the present study, 105 male Wistar rats 2 months old, were divided in 5 groups of 20 animals each that were administered treated domestic sewage effluent as drinking water for 30 months as follows.

- Group P1: Treated sewage water, undiluted, pH: ~ 8.0.



- Group P2: Treated sewage water diluted 1:5, with tap water
- Group P3: Treated sewage water, diluted 1:10, with tap water
- Group P4: Treated sewage water, undiluted, pH: < 7.0.
- Group P5: Tap water, (control group).

In the treated effluent used as drinking water total and dissolved metals were determined as well as in the tap water used for effluents' dilution. Three (3) animals from each group were sacrificed every six (6) months after ECGs, blood and 24 hours urine samples were taken. Ten (10) tissues and organs: spleen, heart, kidney, testis, urinary bladder, brain, lungs, bone and muscle were excised for Cd, Pb, Cu, and Zn determinations and tissue histopathological tests after hematoxyline – eosin or rodamine (specific for metals) staining.

Red blood cell, white blood cell and platelet counts, as well as hemoglobin and hematocrit determinations were performed in blood. Liver transaminases, AST and ALT, glucose, creatinine, Cu, Zn, Pb and Cd were determined in serum. Metals were also determined in the 24h urine samples being collected from the sacrificed animals. Every 15 days animal body weight and survival rate were registered.

Body weight and tissue removal for metal determination and pathology tests were also performed in animals dying by themselves.

The electrocardiograms were taken by FUKUDA DENSHI CARDIMAX FK12, blood analyses were performed by CELL - DYN 3500, ABBOTT DIAGNOSTICS in specific program for rats and serum analyses by OLYMPUS AU 600 while metals were determined in a A.A.S., Perkin Elmer, 560, with electrothermal graphite furnace, HGA 400. Statistical analysis was performed by students' t – test.

Five (5) animals at the beginning of the experiment were anaesthetized, sectioned and used as control data.

Results and conclusions

Biological treatment plant efflux in Ioannina city and especially the final effluent, compared to drinking water contains 50 times higher amount of Cu, 50% more Zn, almost 5 times more Pb and 20 times higher concentration of Cd.

Concerning survival time, group P1 that has been exposed to pure effluent and pH around 8.0 seems to have the greatest impact. Group P4 that had also received pure effluent, but at pH:<7.0, seem to live longer, a fact that can be explained by the lower solubility of Cd at this pH. Pb and Cu have also decreased solubility at pH: 7.0, while at acidic pH, Pb and Cu are most soluble. All metals in soluble form are potentially more toxic, because of their higher bioavailability. Groups P2 (1:5), P3 (1:10) and P5 (control) show almost similar survival time. Apparently, dilution of effluent's toxic or infectious substances benefit the survival time.

Blood indices were used for the study of haemopoietic system and metal concentrations in the spleen for their effects on immune system.

Groups P1 and P4 revealed a statistically important reduction ($p < 0.01$) of lymphocytes compared to controls (P5) after 24 months of exposure. In the same period Cd and Pb showed significant accumulation in the spleen ($p < 0.016$ and $p < 0.05$ correspondingly) in group P1 and also for the period 0-12 months in group P4. Metal accumulation in spleen and bone marrow possibly affects the population and function of immune cells and animal become more vulnerable to other toxic or infectious factors of the effluent. Creatinin and metal concentrations in urine and tissues and also kidney and urinary bladder histopathology were examined for the evaluation of renal stress due to metals.

Creatinin levels were elevated in group P1, where also the concentration of Cd was increased for the whole period of exposure. Furthermore, the histopathological examination showed, in this group, metal deposits, renal tubuli and glomeruli degeneration and inflammatory reactions, especially after the 18th month of exposure. Groups P1 and P4 showed increased secretion of Pb in urine and increased concentration of this metal in kidneys. Reduced Cu secretion (50%) was observed in groups P1 and P4 during the last experimental semester. Urinary bladder, group P4 showed the highest accumulation of Cu and group P1 the highest accumulation of Pb. In testis, Cu had the highest concentrations in group P4.

Hepatic function is slightly influenced in the period between 18-24 months, when an increase in ALT is observed in group P1. At the end of the exposure period, groups P1 and P4 have the highest concentrations of Cd, Pb and less Cu in the liver. Pathology findings from animals that died after 18 months of exposure reveal metal deposits accompanied by hepatic cell strong degeneration and necrosis.

- Cardiac function is disturbed after 18 months of exposure, especially in group P1, where in some electrocardiographic recordings: increased cardiac rate, extrasystols, S-T falls and also atrioventricular blocks were registered. Pb and Cd, especially in P1 group, showed statistically increased concentrations in cardiac tissue at the end of exposure period ($p=0.013$, $p=0.016$ correspondingly). The recorded electrocardiographic disturbances may possibly be attributed to metal accumulation in myocardium.

In lungs, Pb and Cd concentrations are higher in group P4, especially during the last semester ($p=0.001$ for Pb, $p=0.03$ for Cd). Pathology findings from dead animals of P1 (in a larger extend) and P4 groups, revealed serious metal particle deposits, fibrosis and inflammatory lesions.

In brain, after 24 months of exposure, Cd and Pb revealed increased concentrations in the P1 group ($p=0.026$ for Cd and $p=0.05$ for Pb).

Body weight is the main index of the myoskeletal system growth. Weight reduction was significant after the 18th month of exposure in groups P1 ($p<0.01$) and P4 ($p<0.01$) and it also seems to have an inversely proportional relation to the dilution of the effluent administrated to rats. Moreover, metal concentrations in bones are the best markers of long time exposure effects. Cd accumulation is significant in tibial bones for groups P1 ($p=0.002$) and P4 ($p=0.008$), while Pb accumulation is significant for P1 group ($p=0.015$). Both metals were present in 10 times higher concentrations in tibial bones compared to other tissues while the accumulation rate was high during the first 12 months of exposure.

Conclusions

- a) Long time exposure to treated domestic effluents as drinking water exposes living organisms to stress related to metal concentration and pH of the effluent.
- b) Accumulation indices for trace elements are significantly lower than those of toxic metals
- c) A number of animals achieve compensational adaptation to stress from metals resulting to longer survival, better growth and lower tissue metal accumulation and histo-organo-systemic injuries.



10. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

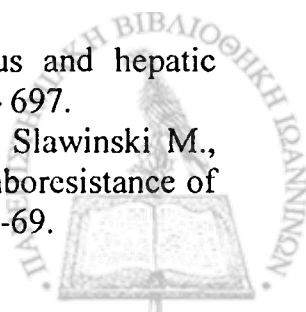
- Abarnou A. and Miossec L.: Chlorinated waters discharged to the marine environmental chemistry and environmental impact. An overview. *The Sci. of the Tot. Envir.* 1992, **126**: 173 – 197.
- Agarwal A., Ikemoto I., Loughlin KR.: Prevention of testicular damage by free-radical scavengers. *Urology* 1997, **50(5)**: 759-763.
- Agarwal K., Sharma A. and Talukder G.: Effects of copper on mammalian cell components. *Chem. Biol. Interact.*, 1989, **69(1)**: 1 - 16.
- Αγγελίδης Μ.: Σημειώσεις του μαθήματος 'Μηχανισμοί ρύπανσης υδάτων', Μυτιλήνη, 1996
- Ahn YH., Kim YH., Hong SH., Koh JY.: Depletion of intracellular zinc protein induces protein synthesis-dependent neuronal apoptosis in mouse cortical culture. *Exp. Neurol.* 1998, **154(1)**: 47-56.
- Al Dhaheri AH., el-Sabban FF., Fahim MA.: Lead alters structure and function of mouse flexor muscle. *Int. J. Dev. Neurosci.* 1996, **14(2)**: 125-135.
- Αλμπάνης Α. Τρ.: Ρύπανση και τεχνολογία προστασίας Περιβάλλοντος. Ιωάννινα 1994, Παν/μιο Ιωαννίνων.
- Albert C., Petrasek Jr., Irwin J., Kugelman J.: Metals removals and partitioning in conventional wastewater treatment plants. *Journal Wat. Pollut. Contr. Fed.* 1983, **55(9)**: 1183 – 1190.
- Alexidis AN., Rekka EA. and Kourounakis PN.: Influence of mercury and cadmium intoxication on hepatic microsomal CYP2E and CYP3A subfamilies. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.*, 1994, **85(1)**: 67 - 72.
- Alvares AP., Fischbein A., Sassa S., Anderson KE., Kappas A.: Lead intoxication: effects on cytochrome P-450-mediated hepatic oxidations. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1976, **19(2)**: 183-190.
- Andersen O.: Oral cadmium toxicology In: *Nordic Symposium Proceedings, Metabolism of trace elements related to human diseases*, June 1985, 44 – 48.
- Anderson R.A.: Trace elements and cardiovascular diseases. In: *Nordic Symposium Proceedings, Metabolism of trace elements related to human diseases*, June 1985, 317 – 324.
- Anderson RA.: Trace elements and cardiovascular diseases. *Acta Pharmacol. Toxicol.(Copenh)*, 1986, **59(7)**: 317-324.
- Αποστολάκης Μ.Ι.: Στοιχεία φυσιολογίας του ανθρώπου. Θεσ/νίκη 1995.
- Bagchi D., Bagchi M., Hassoun EA., Stohs SJ.: Cadmium-induced excretion of urinary metabolites, DNA damage, glutathione depletion and hepatic lipid peroxidation in Sprague-Dawley rats. *Biol. Trace Elem. Res.* 1996, **52(2)**: 143-154.
- Bailey D.A., Dorrell J.J., and Robinson K.S.: The influence of trivalent chromium on the biological treatment of domestic sewage. *Wat. Pollut. Control* , 1970, **69**: 100 – 110.
- Bala S., Failla ML.: Copper repletion restores the number and function of CD4 cells in copper-deficient rats. *J. Nutr.* 1993, **123(6)**: 991-996.
- Barnum-Huckins KM., Martinez AO., Rivera EV., Adrian EK Jr., Herbert DC., Weaker FJ., Walter CA. and Adrian GS.: A comparison of the suppression of human transferrin synthesis by lead and lipopolysaccharide. *Toxicology*, 1997, **118(1)**: 11 - 22.
- Barth E.F., Ettinger M.B., Salotto B.V., and McDermott G.N.: Summary report on the effects of heavy metals on the biological treatment processes. *Journal Wat. Pollut. Contr. Fed.* 1965, **37**: 86 – 104.
- Bates J. and McClain CJ.: The effect of severe zinc deficiency on serum levels of albumin, transferrin and prealbumin in man. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1981, **34(9)**: 1655 - 1660.

- Batra N., Nehru B., Bansal MP.: The effect of zinc supplementation on the effects of lead on the rat testis. *Reprod. Toxicol.* 1998, **12**(5): 535-540.
- Becking G.C.: Trace elements and Drug Metabolism In: *The Medical clinics of North America, Symposium on Trace Elements*, 1976, **60**: 813 – 831
- Bedwal RS., Bahuguna A.: Zinc, copper and selenium in reproduction. *Experientia* 1994, **50**(7): 626-640.
- Benders AA., Li J., Lock RA., Binders RJ., Bonga SE., Veerkamp JH.: Copper toxicity in cultured human skeletal muscle cells: the involvement of Na⁺/K⁽⁺⁾-ATPase and the Na⁺/Ca⁽²⁺⁾-exchanger. *Pflugers Arch.* 1994, **428**(5-6): 461-467.
- Bennett DR., Baird CJ., Chan KM., Crookes PF., Bremner CG., Gottlieb MM. and Naritoku WY.: Zinc toxicity following massive coin ingestion. *Am. J. Forensic Med. Pathol.*, 1997, **18**(2): 148 - 153.
- Bertini I., Messori L.: Metal ions from the environment to the function of living organisms. In: *Proceedings of the 2nd International Symposium on Metal ions in Biology and Medicine*, 1992, **2**, 247 – 252.
- Βεζυράκη – Αγγελίδη Π.Ε.: Πειραματικές μελέτες της θερμορύθμισης, 1991 Διδακτορική διατριβή, Ιατρική Σχολή Παν/μίου Ιωαννίνων.
- Bilow K., Salbu B., Strand K.M.H., and Munthe E.: The influence of D-penicillamine on trace element excretion. In: *Nordic Symposium Proceedings, Metabolism of trace elements related to human diseases*, June 1985, 374 – 378.
- Bincoletto C., Queiroz ML.: The effect of lead on the bone marrow stem cells of mice infected with *Listeria monocytogenes*. *Vet. Hum. Toxicol.*, 1996, **38**(3): 186-190.
- Boeckx RL.: Lead poisoning in children. *Anal. Chem.*, 1986, **58**(2): 274A-288A.
- Bogden JD., Jortner BS., Kemp FW., Zadzielski E.: Effect of aurothioglucose on liver and kidney concentrations of copper, iron, manganese and zinc. *Toxicology* 1981, **19**: 21-29.
- Borovik A.S.: Characterizations of metal ions in biological systems. In: *Heavy metals Tolerance in plants: Evolutionary Aspects*, 1990, 3 – 7, Editor A. Jonathan Shaw, CRC Press.
- Bremner I., Mehra RK., Sato M.: Metallothionein in blood, bile and urine. *Experientia Suppl. Basel* 1987, **52**: 507-517.
- Brewer GJ., Aster JC., Knutsen CA., Kruckeberg WC.: Zinc inhibition of calmodulin: a proposed molecular mechanism of zinc action on cellular functions. *Am. J. Hematol.* 1979, **7**(1): 53-60.
- Brown H.G., Hensley C.P., McKinney G.L., and Robinson J.L.: Efficiency of heavy metals removal in municipal sewage treatment plants. *Envir. Lett.* 1973, **5**: 103 – 114.
- Brown M. J. and Lester J. N.: Metal removal in activated sludge: the role of bacterial extracellular polymers. *Wat. Res.* March 1979: 817 – 837.
- Brown RF., Marrs TC., Rice P., Masek LC.: The histopathology of rat lung following exposure to zinc oxide/hexachloroethane smoke or installation with zinc chlorine followed by treatment with 70% oxygen. *Environ. Health Perspect.* 1990, **85**: 81-87.
- Buchheim K., Stoltenburg-Didinger G., Lilienthal H., Winneke G.: Myopathy: a possible effect of chronic low level lead exposure. *Neurotoxicology* 1998, **19**(4-5): 539-545.
- Bull RJ., McCauley PT., Taylor DH., Croften KM. The effects of lead on the developing central nervous system of the rat. *Neurotoxicology* 1983, **4**(1): 1-17.
- Cardiner J.: The chemistry of cadmium in natural water. The absorption of cadmium on river mud and naturally occurring solids. *Wat. Res.* 1974, **8**: 157 – 164.
- Cavalleri, A., Minoia C., Pozzoli L. and Baruffini A.: Determination of plasma lead in normal subjects and in lead exposed workers. *Brit. J. Ind. Med.*, 1978, **35**, 21 – 26.
- Cerone SI., Sansinanea AS., Streitenberger SA., Garcia MC., Ayza NJ.: The effect of copper deficiency on the peripheral blood cells of cattle. *Vet. Res. Commun.*, 1998, **22**(1): 47-57.

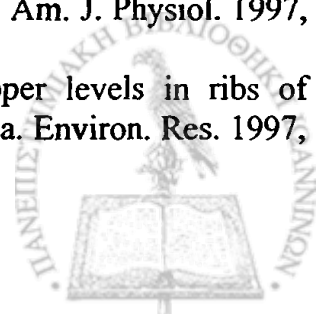
- Chambers RC., Laurent GJ., Westergren-Thorsson G.: Cadmium inhibits proteoglycan and procollagen production by cultured human lung fibroblasts. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 1998, **19**(3): 498-506.
- Chen K.Y., Young C.S. and Rohart N.: Trace metals in wastewater effluents. *Journal Wat. Pollut. Contr. Fed.* 1975, **46**: 2663 – 2675.
- Chen SM. and Young TK.: Effects of zinc deficiency on endogenous antioxidant enzymes and lipid peroxidation in glomerular cells of normal and five-sixths nephrectomized rats. *J. Formos. Med. Assoc.*, 1998, **97**(11): 750 - 6.
- Chen Y., Saari JT. and Kang YJ.: Expression of gamma-glutamylcysteine synthetase in the liver of copper-deficient rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1995, **210**(2): 102 - 106.
- Chen Y., Saari JT., Kang YJ.: Weak antioxidant defenses make the heart a target for damage in copper-deficient rats. *Free Radic. Biol. Med.* 1994, **17**(6):529-536.
- Cheng M.H., Patterson J.W. and Minear R.A.: Heavy metals uptake by activated sludge. *Journal Wat. Pollut. Contr. Fed.* 1975, **47**: 362 – 376.
- Cheng Y., Schwartz J., Vokonas PS., Weiss ST., Aro A., Hu H.: Electrocardiographic conduction disturbances in association with low-level lead exposure (the Normative Aging Study). *Am. J. Cardiol.*, 1998, **82**(5): 594-599.
- Cheng-Fang Lin and Benjamin M. B. : The effects of strongly complexing ligands on the adsorptive partitioning of metal ions. *Wat. Res.*1992, **26**(4): 397 – 407.
- Chisolm JC. and Handorf CR.: Further observations on the etiology of pre-eclampsia: mobilization of toxic cadmium-metallothionein into the serum during pregnancy. *Med. Hypotheses*, 1996, **47**(2): 123 -128.
- Chobanian SJ.: Accidental ingestion of liquid zinc chloride: local and systemic effects. *Ann. Emerg. Med.*, 1981, **10**(2): 91 - 3.
- Choudhuri S., Liu WL., Berman NE., Klaassen CD.: Cadmium accumulation and metallothionein expression in brain of mice at different stages of development. *Toxicol. Lett.* 1996, **84**(3): 127-133.
- Chvapil M.: "Effect of zinc on cells and biomembranes." In: *The Medical clinics of North America, Symposium on Trace Elements*, 1976, **60**: 799 – 812.
- Connell P., Young VM., Toborek M., cohen DA., Barve S., McClain CJ., Henning B.: Zinc attenuates tumor necrosis factor-mediated activation of transcription factors in endothelial cells. *J. Am. Coll. Nutr.* 1997, **16**(5): 411-417.
- Conner MW., Flood WH., Rogers AE., Amdur MO.: Lung injury in guinea pigs caused by multiple exposures to ultrafine zinc oxide: changes in pulmonary lavage fluid. *J. Toxicol. Environ Health* 1988, **25**(1): 57-69.
- Conner MW., Lam HF., Rogers AE., Fitzgerald S., Amdur MO.: Lung injury in guinea pigs caused by multiple exposures to submicron zinc oxide mixed with sulfur dioxide in a humidified furnace. *J. Toxicol. Environ. Health.* 1985, **16**(1): 101-114.
- Corpas I., Antonio MT.: Study of alterations produced by cadmium and cadmium/lead administration during gestational and early lactation periods in the reproductive organs of the rat. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 1998, **41**(2): 180-188.
- Cuajungco MP., Lees GJ.: Zinc and Alzheimer's disease: is there a direct link? *Brain Res.Rev.*, 1997, **23**(3): 219-236.
- Cuajungco MP., Lees GL.: Nitric oxide generators produce accumulation of chelatable zinc in hippocampal neuronal perikarya. *Brain Res.* 1998, **799**(1): 118-129.
- Cui L., Takagi Y., Wasa M., Iiboshi Y., Inoue M., Khan J., Sando K., Nezu R. and Okada A.: Zinc deficiency enhances interleukin-1 alpha-induced metallothionein-1 expression in rats. *J. Nutr.*, 1998, **128**(7): 1092 - 8.
- Cuthbert JA.: Wilson's disease. Update of a systemic disorder with protean manifestations. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, 1998, **27**(3): 655-681.
- Daggett DA., Nuwaysir EF., Nelson SA., Wright LS., Kornguth SE. and Siegel FL.: Effects of triethyl lead administration on the expression of glutathione S-transferase

- isoenzymes and quinone reductase in rat kidney and liver. *Toxicology*, 1997, **117**(1): 61 - 71.
- Danielson B.G., Fellström B., Nilsson P., Weiss L., Wikström B.: Trace element levels in patients with renal failure and after transplantation. In: *Nordic Symposium Proceedings, Metabolism of trace elements related to human diseases*, June 1985, 438 - 442.
- Darewicz G., Malczyk E., Darewicz J.: Investigations of urinary cadmium content in patients with urinary bladder carcinoma. *Int. Urol. Nephrol.* 1998, **30**(2): 137-139.
- Davis J.A. and Jacknow J.: Heavy metals in wastewater in three urban areas. *Journal Wat. Pollut. Contr. Fed.* 1975, **47**(9): 2292 - 2297.
- Davis J.A., Gunther A.J., O'Connor J.M.: Priority pollutant loads from effluent discharges to the San Francisco estuary. *Wat. Env. Res.* 1992, **64**(2):134 - 140.
- DiSilvestro R.A., Jones A.A., Smith D. and Wildman R.: Plasma diamine oxidase activities in renal dialysis patients, a human with spontaneous copper deficiency and marginally copper deficient rats. *Clin. Biochem.*, 1997, **30**(7): 559 - 63.
- Dohi Y., Sugimoto K., Yoshikawa T., Ohgushi H., Katsuda T., Tabata S., Moriyama T.: Effect of cadmium on osteogenesis within diffusion chambers by bone marrow cells: biochemical evidence of decreased bone formation capacity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1993, **120**(2): 274-280.
- Driscoll K.E., Maurer J.K., Poynter J., Higgins J., Asquith T., Miller N.S.: Stimulation of rat alveolar macrophage fibronectin release in a cadmium chloride model of lung injury and fibrosis. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1992, **116**(1): 30-37.
- Ebadi M., Leuschen M.P., el Refaey H., Hamada F.M., Rojas P.: The antioxidant properties of zinc and metallothionein. *Neurochem Int.* 1996, **29**(2): 159-166.
- Edel J., Sabbioni E., Pietra R., Rossi A., Torre M., Rizzato G., Fraioli P.: Trace metal lung disease: in vitro interaction of hard metals with human lung and plasma components. *Sci. Total Environ.* 1990, **95**: 107-117.
- Eder K. and Kirchgessner M.: Dietary fat influences the effect of zinc deficiency on liver lipids and fatty acids in rats force-fed equal quantities of diet. *J. Nutr.*, 1994, **124**(10): 1917 - 1926.
- Eichhorn G.L.: The function of metal ions in genetic regulation. In: *Metal ions in biological systems 1985* 10: 2-19. Edited by Helmut Sigel
- Eife R., Weiss M., Muller-Hocker M., Lang T., Barros V., Sigmund B. et. al.: Chronic poisoning by copper in tap water: II. Copper intoxications with predominantly systemic symptoms. *Eur. J. Med. Res.* 1999, **4**: 224-228.
- el Azzouri B., Tsangaris G.T., Pellegrini O., Manuel Y., Benveniste J., Thomas Y.: Cadmium induces apoptosis in a human T cell line. *Toxicology*, 1994, **88**(1-3): 127 - 139.
- Elinder C.G.: Health hazards from environmental or occupational exposure to cadmium. In: *Nordic Symposium Proceedings, Metabolism of trace elements related to human diseases*, June 1985, 24 - 91.
- Eltohamy M.M., Younis M.: Response of testes, epididymis and seminal vesicle of rabbits to zinc deficiency. *Arch. Exp. Veterinar. Med.* 1991, **45**(1): 155-160.
- Endre L., Beck F.W.J. and Prasad A.S.: The role of zinc in human health. *J. Trace Elem. Exp. Med.*, 1990, **3**: 337 - 375.
- Escribano A., Revilla M., Hernandez E.R., Seco C., Gonzalez-Riola J., Villa L.F., Rico H.: Effect of lead on bone development and bone mass: a morphometric, densitometric and histomorphometric study in growing rats. *Calcif. Tissue Int.* 1997, **60**(2): 200-203.
- Esler W.P., Stimson E.R., Jennings J.M., Ghilardi J.R., Mantyh P.W., Maggio J.E.: Zinc-induced aggregation of human and rat beta-amyloid peptides in vitro. *J. Neurochem.* 1996, **66**(2): 723-732.

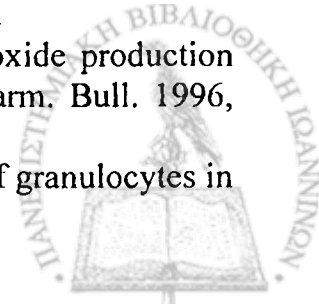
- Evangelou A., Kalfakakou V., Benveniste J., Arnoux B.: Inhibition of PAF-acether effects on isolated guinea pig hearts by zinc ions (Zn²⁺). *Biol. Trace Elem. Res.* 1995, **50**(1): 43-55.
- Falchuk K.H.: "Disturbances in trace element metabolism." In: *Harrison's Principles of Internal Medicine* (12th Edition). Edited by: J.D. Wilson, E. Braunwald, K.J. Isselbacher, R. G. Petersdorf, J. B. Martin, A.S. Fauci and R. K. Root. 1991, New York: McGraw – Hill, 443 – 445.
- Farina J., Ribas B., Fernandez-Acenero MJ., Gascon C.: Pulmonary toxicity of cadmium in rats: a histologic and ultrasound study. *Gen. Diagn. Pathol.* 1996, **141**(5-6): 365-369.
- Fels LM., Wunsch M., Baranowski J., Norska-Borowka I., Price RG., Taylor SA., Patel S., De Broe M., Elsevier MM., Lauwerys R., Roels H., Bernard A., Mutti A., Gelpi E., Rosello J. and Stolte H.: Adverse effects of chronic low level lead exposure on kidney function—a risk group study in children. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 1998, **13**(9): 2248 - 56.
- Ferguson SA., Holson RR., Gazzara RA., Siitonen PH.: Minimal behavioral effects from moderate postnatal lead treatment in rats. *Neurotoxicol Teratol.* 1998, **20**(6): 637-643.
- Fergusson J.E.: *The Heavy Elements: Chemistry, Environmental impact and Health effects*, Pergamon Press, 1990.
- Filipe PM., Fernandes AC., Manso CF.: Effects of zinc on copper-induced and spontaneous lipid peroxidation. *Biol. Trace Elem. Res.* 1995, **47**(1-3): 51-56.
- Frankel FR., Steeger JR., Damiano VV., Sohn M., Oppenheim D., Weibaum G.: Induction of unilateral pulmonary fibrosis in the rat by cadmium chloride. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1991, **5**(4): 385-394.
- Friberg L.: Cadmium and the kidney. *Environ. Health Perspect.* 1984, **54**: 1-11.
- Fu H., Bofetta P.: Cancer and occupational exposure to inorganic lead compounds: a meta-analysis of published data. *Occup. Environ Med.* 1995, **52**(2): 73-81.
- Fujiwara Y., Watanabe S., Sakamoto M., Kaji T.: Repair of wounded monolayers of cultured vascular endothelial cells after simultaneous exposure to lead and zinc. *Toxicol. Lett.*, 1998, **94**(3):181-188.
- Funakoshi T., Ueda K., Shimada H. and Kojima S.: Effects of dithiocarbamates on toxicity of cadmium in rat primary hepatocyte cultures. *Toxicology*, 1997, **116**(1-3): 99 - 107.
- Γαλάνη Α.: " Η επίδραση στην ερυθροκυτταρική διακίνηση του ψευδαργύρου (Zn) βιολογικά δραστικών παραγόντων." 1996, Διδακτορική διατριβή, Ιατρική Σχολή Παν/μίου Ιωαννίνων.
- Gardiner J.: Complexation of trace metals by ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) in natural waters. *Wat. Res.*1976, **10**: 507 – 514.
- Γιαννάκης Δημ.: Διακίνηση και ενσωμάτωση βαρέων μετάλλων στο τοίχωμα ουροδόχων κύστεων επίμυων. 1997 Διδακτορική διατριβή – Ιατρική σχολή, Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
- Giuliodori MJ., Ramirez CE. and Ayala M.: Acute copper intoxication after a Cu-Ca EDTA injection in rats. *Toxicology*, 1997, **124**(3): 173 - 7.
- Glauser SC., Bello CT., Glauser EM.: Blood-cadmium levels in normotensive and untreated hypertensive humans. *Lancet* 1976, **1**(7962): 717-718.
- Goldberg A., Meredith PA., Miller S., Moore MR., Thompson GG.: Hepatic drug metabolism and haem biosynthesis in lead-poisoned rats. *Br. J. Pharmacol.*, 1978, **62**(4): 529-536.
- Goode HF., Kelleher J. and Walker BE.: Relation between zinc status and hepatic functional reserve in patients with liver disease. *Gut*, 1990, **31**(6): 694 - 697.
- Grabowska-Maslanka A., Janik A., Chlap Z., Szuperska-Ocetkiewicz A., Slawinski M., Grylewski RJ., Korbut R.: Influence of cadmium intoxication on thromboresistance of vascular endothelium in rabbits. *J. Physiol. Pharmacol.*, 1998, **49**(1): 61-69.



- Greenman DL., Morrisey RL., Blakemore W., Crowell J., Siitonen P., Felton P., Allen R. and Cronin G.: Subchronic toxicity of triethylenetetramine dihydrochloride in B6C3F1 mice and F344 rats. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 1996, **29**(2): 185 - 93.
- Guyton and Hall: *Ιατρική Φυσιολογία*. 1998, 9^η έκδοση, Εκδόσεις Γρ. Παρισιάνος.
- Hafiez AA., el-Kirdassy ZH., el-Malkh NN., el-Zayat EM.: Role of zinc in regulating the testicular function. Part 3. Histopathological changes induced by dietary zinc deficiency in testes of male albino rats. *Nahrung*, 1990, **34**(1): 65-73.
- Hamada T., Tanimoto A., Arima N., Ide Y., Sasaguri T., Shimajiri S., Sasaguri Y.: Altered membrane skeleton of red blood cells participates in cadmium-induced anemia. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 1998, **45**(4): 841-847.
- Hamilton JD., O'Flaherty EJ.: Effects of lead exposure on skeletal development in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1994, **22**(4): 594-604.
- Hantson P., Lievens M. and Mahieu P.: Accidental ingestion of a zinc and copper sulfate preparation. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, 1996, **34**(6): 725 - 30.
- Harrison R.M., and Laxen D.P.H.: Metals in the environment I – chemistry, *Chem. Br.*, 1980, **16**: 316 – 320.
- Hart BA.: Cellular and biochemical response of the rat lung to repeated inhalation of cadmium. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1986, **82**(2): 281-291.
- Hay R.W.: *Βιο-Ανόργανη Χημεία, Μετάφραση – επιμέλεια: Ε. Μάνεση-Ζούπα, Δ. Ράπτης, Εκδόσεις Παπαζήση, 1987.*
- Henkin R.I.: On the role of adrenocorticosteroids in the control of zinc and copper metabolism in man. In *Trace Element Metabolism in Animals*, edited by W.G. Hoekstra, J.W. Suttie, H.E. Ganther and W. Mertz. Baltimore, MD: University Park, 1974 vol. 1, 299 – 328.
- Henkin R.I.: Trace metals in Endocrinology. In: *The Medical clinics of North America, Symposium on Trace Elements*, 1976, **60**: 779 – 798.
- Hennig B., Toborek M., McClain CJ.: Antiatherogenic properties of zinc: implications in endothelial cell metabolism. *Nutrition* 1996, **12**(10): 711-717.
- Heo Y., Lee WT., Lawrence DA.: Differential effects of lead and cAMP on development and activities of Th1- and Th2- lymphocytes. *Toxicol. Sci.* 1998, **43**(2): 172-185.
- Hertz MM., Bolwig TG., Grandjean P., Westergaard E.: Lead poisoning and the blood-brain barrier. *Acta Neurol. Scand.* 1981, **63**(5): 286-296.
- Hext PM.: Current perspectives on particulate induced pulmonary tumours. *Hum. Exp. Toxicol.* 1994, **13**(10): 700-715.
- Hiraldo J., Carrasco J.: Regulation of the synthesis of brain metallothioneins. *Neurotoxicology* 1998, **19**(4-5): 661-666.
- Hirano S., Ebihara H., Sakai S., Kodama N., Suzuki KT.: Pulmonary clearance and toxicity of intratracheally instilled cupric oxide in rats. *Arch. Toxicol.* 1993, **67**(5): 312-317.
- Hirano S., Sakai S., Elihara H., Kodama N., Suzuki KT.: Metabolism and pulmonary toxicity of intratracheally instilled cupric sulfate in rats. *Toxicology* 1990, **64**(3): 223-233.
- Hoadley J.E., Leinart A.S. and Cousins A.S.: Kinetic analysis of zinc uptake and serosal transfer by vascularly perfused rat intestine. *Am. J. Physiol.* 1987, **252**(Gastrointest. Liver Physiol. 15): 825 – 831.
- Hobai IA., Bates JA., Howarth FC., Levi AJ.: Inhibition by external Cd²⁺ of Na/Ca exchange and L-type Ca channel in rabbit ventricular myocytes. *Am. J. Physiol.* 1997, **272**: H2164-2172.
- Honda R., Tsuritani I., Ishizaki M., Yamada Y.: Zinc and copper levels in ribs of cadmium-exposed persons with special reference to osteomalacia. *Environ. Res.* 1997, **75**(1): 41-48.

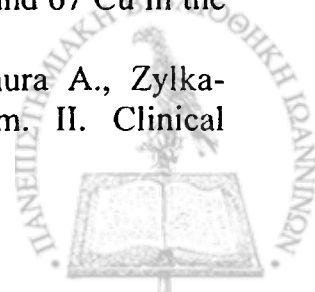


- Hopkins RG., Faila ML.: Chronic intake of a marginally low copper diet impairs in vitro activities of lymphocytes and neutrophils from male rats despite impact on conventional indicators of copper status. *J.Nutr.* 1995, **125**(10): 2658-2668.
- Houtman JP.: Trace elements and cardiovascular diseases. *J. Cardiovasc. Risk.* 1996, **3**(1): 18-25.
- Hu H.: Bone lead as a new biologic marker of lead dose: recent findings and implications for public health. *Environ. Health Perspect.* 1998, **106**(4): 961-967.
- Hurley L.S.: Trace Elements and Teratogenesis. In: *The Medical clinics of North America, Symposium on Trace Elements*, 1976, **60**: 771 – 778.
- Irato P., Sturniolo G.C., Giacom G., Magro A., D'Inca R., Mestriner C., and Albergoni V.: Effect of zinc supplementation on Metallothionein, Copper and zinc concentration in various tissues of Copper-Loaded rats. *Biological Trace Element Research*, 1996, **51**: 87 – 96.
- Issaq H.J.: The role of metals in tumor development and inhibition. In: *Metal ions in biological systems 1985* **10**: 56-85. Edited by Helmut Sigel
- 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**(5): 339-345.
- Jenkins D., Russell L.L.: Heavy metals contribution of household washing products to municipal wastewater. *Wat. Envir. Res.*, 1994, **66**(6):805 – 813.
- Jenkinson SG., Lawrence RA., Grafton WD., Gregory PE., McKinney MA.: Enhanced pulmonary toxicity in copper-deficient rats exposed to hyperoxia. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1984, **4**: 170-177.
- Jin T., Lu J., Nordberg M.: Toxicokinetics and biochemistry of cadmium with special emphasis on the role of metallothionein. *Neurotoxicology* 1998, **19**(4-5): 529-535.
- Johnson FM.: The genetic effects of environmental lead. *Rev. in Mut. Res.* 1998, **410**: 123-140.
- Jones AA., DiSilvestro RA., Coleman M., Wagner TL.: Copper supplementation of adult men: effects on blood copper enzyme activities and indicators of cardiovascular disease risk. *Metabolism*, 1997, **46**(12): 1380-1383.
- Kadrabova J., Madarič A., Kovacikova Z. and Ginter E.: Selenium status, plasma zinc, copper and magnesium in vegetarians. *Biol. Trace Element Research*, 1995, **50**, 13 – 24.
- Kaji T., Fujiwara Y., Sakurai S., Yamaoto C., Kozuka H., Koizumi F.: Zinc promotes the repair of wounded monolayers of cultured vascular endothelial cells. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.*, 1995, **89**(2): 189-198.
- Kaji T., Takata M., Miyahara T., Kozuka H., Koizumi F.: Interaction of zinc with cadmium and copper on ossification of embryonic chick bone in tissue culture. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1990, **19**(5): 653-656.
- Kalfakakou V, Simons T.J: Anionic mechanisms of zinc uptake across the human red cell membrane. *J. Physiol.(Lond)*, 1990, **421**:485-497
- Kalfakakou VP., Evangelou AM., Benveniste J., Arnoux B.: The effects of Zn(2+) on guinea pig isolated heart preparations. *Bio. Trace Elem. Res.*, 1993, **38**(3): 289-299.
- Kamiyama T., Miyakawa H., Li JP., Akiba T., Liu JH., Liu J., Marumo F., Sato C.: Effects of one-year cadmium exposure on livers and kidneys and their relation to glutathione levels. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* 1995, **88**(2): 177-186.
- Kanematsu M., Takagi K., Masuda N., Suketa Y.: Lead inhibits nitric oxide production transiently by mRNA level murine macrophage cell lines. *Biol. Pharm. Bull.* 1996, **19**(7): 949-951.
- Karimbakas J., Langkamp-Henken B., Percival SS.: Arrested maturation of granulocytes in copper deficient mice. *J. Nutr.*, 1998, **128**(11): 1855-60.

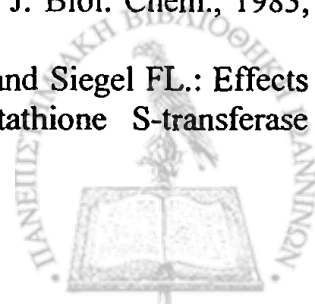


- Kataranovski M., Popovic S., Kataranovski D.: Differential effects of in vivo cadmium administration on lymphocytes and granulocytes in rats. *Vet. Hum. Toxicol.* 1999, **41**(4): 200-204.
- Keenan J.D. Steiner R., Funfaroli A.A.: Landfill leachate treatment. *Journal Wat. Pollut. Contr. Fed.* 1984, **56**(1): 27 - 33.
- Kelly EJ., Quaife CJ., Froelick GJ. And Palmiter RD.: Metallothionein I and II protect against zinc deficiency and zinc toxicity in mice. *J. Nutr.*, 1996, **126**(7): 1782 - 90.
- Kenaga C., Cherian MG., Cox C., Oberdorster G.: Metallothionein induction* and pulmonary responses to inhaled cadmium chloride in rats and mice. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1996, **30**(2): 204-212.
- Khalil-Manesh F., Tartaglia-Erler J. and Gonick HC.: Experimental model of lead nephropathy. IV. Correlation between renal functional changes and hematological indices of lead toxicity. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.*, 1994, **8**(1): 13 - 9.
- Khare N., Der R., Ross G., Fahim M.: Prostatic cellular changes after injection of cadmium and lead into rat prostate. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 1978, **20**(2): 351-365.
- Kido T., Nogawa K., Yamada Y., Honda R., Tsuritani I., Ishizaki M., Yamaya H.: Osteopenia in inhabitants with renal dysfunction induced by exposure to environmental cadmium. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 1989, **61**(4): 271-276.
- Kim R., Rotnitsky A., Sparrow D., Weiss S., Wager C., Hu H.: a longitudinal study of low-level lead exposure and impairment of renal function. The Normative Aging study. *JAMA* 1996, **275**(15): 1177-1181.
- Kim S., Wilson JJ., Allen KG. and Clarke SD.: Suppression of renal gamma-glutamylcysteine synthetase expression in dietary copper deficiency. *Biochim. Biophys. Acta*, 1996, **1313**(2): 89 - 94.
- Kimball SR., Chen SJ., Risica R., Jefferson LS. and Leure-du Pree AE.: Effects of zinc deficiency on protein synthesis and expression of specific mRNAs in rat liver. *Metabolism*, 1995, **44**(1): 126 - 133.
- Kimoto S., Nishida S., Funasaka K., Nakano T., Teramoto K., Tomura TT.: Regional distribution of superoxide dismutase in the brain and myocardium of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. Suppl.* 1995, **1**: 160-161.
- Kishikawa H., Song R., Lawrence DA.: Interleukin 12 promotes enhanced resistance to *Listeria monocytogenes* infection of lead-exposed mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1997, **147**(2): 180-189.
- Klerks P.L.: Adaptation to metals in animals. In: *Heavy metals Tolerance in plants: Evolutionary Aspects*, 1990, 314 - 319, Editor A. Jonathan Shaw, CRC Press.
- Kodavanti UP., Hauser R., Christiani DC., Meng ZH., McGee J., Ledbetter A., Richards J., Costa DL.: Pulmonary responses to oil fly ash differ by virtue of their specific soluble metals. *Toxicol. Sci.* 1998, **43**(2): 204-212.
- Κοιμτζής Θ., Φυτιάνας Κ., Σαμαρά - Κων/νου Κ.: Χημεία Περιβάλλοντος, Θεσ/νίκη 1987, εκδ. Ζητη.
- Kok FJ., Van Duijn CM., Hofman A., Van der Voet GB., De Wolff FA., Paays CH., Valkenburg HA.: Serum copper and zinc and the risk of death from cancer and cardiovascular disease. *Am. J. Epidemiol.*, 1988, **128**(2):352-359.
- Kopp SJ., Glonek T., Perry HM.Jr, Erlanger M., Perry EF.: Cardiovascular actions of cadmium at environmental exposure levels. *Science*, 1982, **217**(4562): 837-839.
- Kraus A., Roth HP. and Kirchgessner M.: Influence of vitamin C, vitamin E and beta-carotene on the osmotic fragility and the primary antioxidant system of erythrocytes in zinc-deficient rats. *Arch. Tierernahr*, 1997, **50**(3): 257 - 69.
- Kubow S., Bray TM., Bettger WJ.: Effects of dietary zinc and copper on free radical production in rat lung and liver. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1986, **64**(10): 1281-1285.

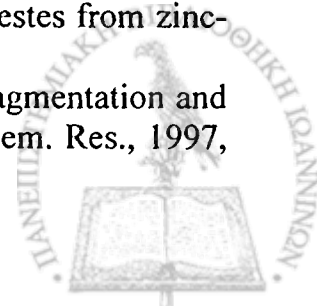
- Kugelman I. J. and McCarty P.L.: Cation toxicity and stimulation in anaerobic waste treatment. *Journal Wat. Pollut. Contr. Fed.* 1965, **37**(1): 93 – 96.
- Kuschner WG, D'Alessandro A., Wintermeyer SF., Wong H., Boushey HA., Blanc PD.: Pulmonary responses to purified zinc oxide fume. *J. Investig. Med.* 1995, **43**: 371-378.
- Lai CC., Huang WH., Askari A., Wang Y., Sarvazyan N., Klevay LM., Chiu TH.: Differential regulation of superoxide dismutase in copper-deficient rat organs. *Free Radic. Biol. Med.* 1994, **16**(5): 613-620.
- Lai CC., Huang WH., Klevay LM., Gunning WT 3rd. and Chiu TH.: Antioxidant enzyme gene transcription in copper-deficient rat liver. *Free Rad. Biol. Med.*, 1996, **21**(2): 233 - 240.
- Lal B., Murthy RC., Anand M., Chandra SV., Kumar R., Tripathi O., Srimal RC.: Cardiotoxicity and hypertension in rats after oral lead exposure. *Drug. Chem. Toxicol.*, 1991, **14**(3): 305-318.
- Lall SB., Dan G.: Role of corticosteroids in cadmium induced immunotoxicology. *Drug. Chem. Toxicol.* 1999, **22**(2): 401-409.
- Laskey JW., Rehnberg GL., Laws SC., Hein JF.: Reproductive effects of low acute doses of cadmium chloride in adult male rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1984, **73**(2): 250-255.
- Law JS., McBride SA., Graham S., Nelson NR., Slotnick BM., Henkin RI.: In vivo effects of zinc deficiency on calmodulin concentrations in selected rat tissues. *Life Sci.* 1987, **41**(24): 2597-2606.
- Laxen D.P.H., and Harrison R.M.: The physicochemical speciation of Cd, Pb, Cu, Fe and Mn in the final effluent of a sewage treatment works and its impact on speciation in the receiving river. *Wat. Res.* 1981, **15**: 1053 – 1065.
- Lear PM., Prohaska JR.: Atria and ventricles of copper-deficient rats exhibit similar hypertrophy and similar altered biochemical characteristics. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1997, **215**(4): 377-385.
- Lepage LM., Giesbrecht JA., Taylor CG.: Expression of T lymphocyte p56(lck), a zinc-finger signal transduction protein, is elevated by dietary zinc deficiency and diet restriction in mice. *J. Nutr.* 1999, **129**(3): 620-627.
- Limaye DA., Shaikh ZA.: Cytotoxicity of cadmium and characteristics of its transport in cardiomyocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1999, **154**(1): 59-66.
- Loghman-Adham M.: Renal effects of environmental and occupational lead exposure. *Environ. Health Perspect.* 1997, **105**(9): 928-939.
- Lupo S., Hewitt WR. and Rush GF.: Cadmium toxicity in the isolated perfused rat liver. *Toxicol. Lett.*, 1986, **34**(1): 5 - 11.
- Lutsenko LA., Borisenkova RV., Gvozdeva LL., Skriabin SI., Ivanova LG.: [Fibrogenic and general toxic effects of copper and nickel sulfide ore dust.] *Abstract, Med. Tr. Prom. Ekol.* 1997, **5**: 38-43.
- Manahan S.E.: *Environmental chemistry*, 1994, Lewis Publishers, 6th edition.
- Manca D., Ricard AC., Tra HV., Chevalier G.: Relation between lipid peroxidation and inflammation in the pulmonary toxicity of cadmium. *Arch. Toxicol.* 1994, **68**(6): 364-369.
- Mao S., Medeiros DM., Wildman RE.: Cardiac hypertrophy in copper-deficient rats is owing to increased mitochondria. *Biol. Trace Elem. Res.*, 1998, **64**(1-3): 175-184.
- Marceau N., Aspin N.: Distribution of ceruloplasmin – ceruloplasmin-bound 67 Cu in the rat. *Am. J. Physiol.* 1972, **222**: 106 – 110.
- Marek K., Kujawska A., Zajusz K., Romaniec B., Sonecka F., Stachura A., Zylka-Wloszczyk M.: [Effect of metal dust on the respiratory system. II. Clinical examinations. *Abstract, Med. Pr.*, 1979, **30**: 21-29.



- Martin GB., White CL., Markey CM., Blackberry MA.: Effects of dietary zinc deficiency on the reproductive system of young male sheep: testicular growth and the secretion of inhibin and testosterone. *J. Reprod. Fertil.* 1994, **101**(1): 87-96.
- Matrisian L.M., McDonnell S., Miller D.B., Navre M., Seftor E.A. and Hendrix M.J.: The role of the matrix metalloproteinase stromelysin in the progression of squamous cell carcinomas. *Am. J. Med. Sci.*, 1991, **302**: 157 – 162.
- Mazus B., Falchuk K.H. and Vallee B.L.: Inhibition of Euglema gracilus and wheat germ zinc RNA polymerases II by 1,10 – phenanthroline acting as a chelating agent. *Biochemistry*, 1986, **25**: 2941 – 2945.
- McKenna IM., Bare RM., Waalkes MP.: Metallothionein gene expression in testicular interstitial cells and liver of rats treated with cadmium. *Toxicology* 1996, **107**(2): 121-130.
- Medeiros DM., Wildman RE.: Newer findings on a unified perspective of copper restriction and cardiomyopathy. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1997, **215**(4): 299-313.
- Meier J. R., Bishop D. F.: Evaluation of conventional treatment processes for removal of mutagenic activity from municipal wastewaters. *Journal Wat. Pollut. Contr. Fed.* 1985, **57**: 999 – 1005.
- Melichar B., Tandik P., Malir F., Vavrova J., Bures J., Mergancova J., Voboril Z.: Association between renal tubular cell dysfunction and increased urinary zinc excretion in cancer patients. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1995, **55**(2): 149-152.
- Merker HJ., Gunther T.: Testis damage induced by zinc deficiency in rats. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 1997, **11**(1): 19-22.
- Miller TE., Golemboski KA., Ha RS., Bunn T., Sanders FS., Dietert RR.: Developmental exposure to lead causes persistent immunotoxicology in Fischer 344 rats. *Toxicol. Sci.* 1998, **42**(2): 129-135.
- Min KS., Ohyanagi N., Ohta M., Onosaka S., Tanaka K.: Effect of erythropoiesis on splenic cadmium-metallothionein level following an injection of CdCl₂ in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1995, **134**(2): 235-240.
- Minami T., Ichii M., Okazaki Y., Kubo M., Kadota E., Inoue T., Yamada Y. and Fushimi H.: Renal changes of streptozotocin-induced diabetic rats fed a low-zinc diet. *Ren. Fail.*, 1995, **17**(4): 349 - 63.
- Moon CS., Zhang ZW., Shimbo S., Watanabe T., Lee CU. et. al.: Evaluation of urinary cadmium and lead as markers of background exposure of middle-aged women in Korea: dietary intake as an influential factor. *Toxicol. Lett.* 1999, **108**(2-3): 173-178.
- Moonga BS., Dempster DW.: Zinc is a potent inhibitor of osteoclastic bone resorption in vitro. *J. Bone Miner. Res.* 1995, **10**(3): 453-457.
- Moore MR., Meredith PA., Goldberg A., Carr KE., Toner PG., Lawrie TD.: Cardiac effects of lead in drinking water of rats. *Clin. Sci. Mol. Med.*, 1975, **49**(4): 337-341.
- Morgan DL., Shines CJ., Jeter SP., Blazka ME., Elwell MR., Wilson RE., Ward SM., Price HC., Moskowitz PD.: Comparative pulmonary absorption, distribution and toxicity of copper gallium diselenide, copper indium diselenide and cadmium telluride in Sprague-Dawley rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1997, **147**(2): 399-410.
- Morgan J.M.: Cadmium and zinc abnormalities in bronchogenic carcinoma. *Cancer*, 1970, **25**, 1394 – 1402.
- Morgan NG., Blackmore PF., Exton JH.: Modulation of the alpha 1- adrenergic control of hepatocyte calcium redistribution by increases in cyclic AMP. *J. Biol. Chem.*, 1983, **258**: 5110 - 5116.
- Moser R., Oberley TD., Daggett DA., Friedman AL., Johnson JA. and Siegel FL.: Effects of lead administration on developing rat kidney. I. Glutathione S-transferase isoenzymes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1995, **131**(1): 85 - 93.

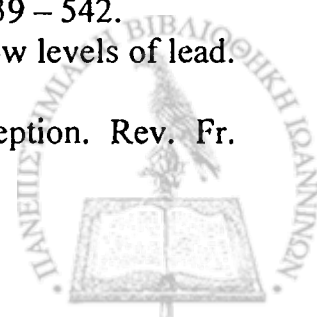


- Murray C.N., and Meinke S.: Influence of soluble sewage material on adsorption and desorption behaviour of cadmium, cobalt, silver and zinc in sediment – freshwater, sediment – seawater systems. *J. Oceanog. Soc. Japan*, 1974, **30**: 216 – 221.
- Murthy R.C., Gupta S.K., Saxena D.K.: Nuclear alterations during acrosomal cap formation in spermatids of lead –treated rats. *Pepr. Toxicol.* 1995, **9**(5): 483-489.
- Nath R.: Copper deficiency and heart disease: molecular basis, recent advances and current concepts. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 1997, **29**: 1245-1254.
- Naveh Y., Kemp F.W., Holding K., Bruening K.S., Bogden J.D.: Relationships among tissue trace element and major mineral concentrations in the rat. *Trace Elem. in Med.* 1988, **5**(1): 12-15.
- Nomiyama K., Nomiyama H., Kameda N., Tsuji A., Sakurai H.: Mechanism of hepatorenal syndrome in rats of Long-Evans Cinnamon strain, an animal model of fulminant Wilson's disease. *Toxicology* 1999, **132**(2-3): 201-214.
- Nordberg G.F., Jin T., Kong Q., Ye T., Cai S., Wang Z., Zhuang F., Wu X.: Biological monitoring of cadmium exposure and renal effects in a population group residing in a polluted area in China. *Sci. Total. Envir.* 1997, **199**(1-2): 111-114.
- Novelli E.L., Vieira E.P., Rodrigues N.L. and Ribas B.O.: Risk assesment of cadmium toxicity on hepatic and renal tissues of rats. *Environ. Res.*, 1998, **79**(2): 102 -105.
- O'Dell B.L.: in *Biochemistry of copper, The Medical clinics of North America, Symposium on Trace Elements*, 1976, **60**(4): 687 – 704.
- O'Dell B.L., Kilburn K.H., McKenzie W.N., Thurston R.J.: The lung of the copper-deficient rat. A model for developmental pulmonary emphysema. *Am. J. Pathol.* 1978, **91**(3): 413-432.
- O'Dell B.L.: Roles of zinc and copper in the nervous system. *Prog. Clin. Biol. Res.* 1993, **380**: 147-162.
- Oberdorster G., Cherian M.G., Baggs R.B.: Correlation between cadmium-induced pulmonary carcinogenicity, metallothionein expression and inflammatory processes: a species comparison. *Environ. Health Perspect.* 1994, **102**(3): 257-263.
- Oberley T.D., Friedman A.L., Moser R., Siegel F.L.: Effects of lead administration on developing rat kidney. II. Functional, morphologic and immunohistochemical studies. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1995, **131**(1): 94-107.
- Ohno H., Doi R., Yamamura K., Yamashita K., Izuka S. and Taniguchi S.: A study of zinc distribution in erythrocytes of normal humans. *Blut.*, 1985, **50**: 113 – 116.
- Ohta H., Nakakita M., Tanaka H., Seki Y., Yoshikawa H.: Induction of metallothionein-like cadmium-binding protein in the testis by oral cadmium administration in rats. *Ind. Health* 1997, **35**(1): 96-103.
- Okuda B., Iwamoto Y., Tashibana H., Sugita M.: Parkinsonism after acute cadmium poisoning. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 1997, **99**(4): 263-265.
- Om A.S. and Chung K.W.: Dietary zinc deficiency alters 5 alpha-reduction and aromatization of testosterone and androgen and estrogen receptors in rat liver. *J. Nutr.* **126**(4): 842 - 848.
- Oner G., Senturk U.K., Izgut-Uysal V.N.: Role of cadmium-induced lipid peroxidation in the kidney response to atrial natriuretic hormone. *Nephron* 1996, **72**(2): 257-262.
- Oteiza P.I., Olin K.L., Fraga C.G., Keen C.L.: Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes. *J. Nutr.*, 1995, **125**(4): 823-829.
- Oteiza P.L., Olin K.L., Fraga C.G., Keen C.L.: Oxidant defense systems in testes from zinc-deficient rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1996, **213**(1): 85-91.
- Paramanatham R., Sit K.H. and Bay B.H.: Adding Zn²⁺ induces DNA fragmentation and cell condensation in cultured human Chang liver cells. *Biol. Trace Elem. Res.*, 1997, **58**(1-2): 135 - 147.

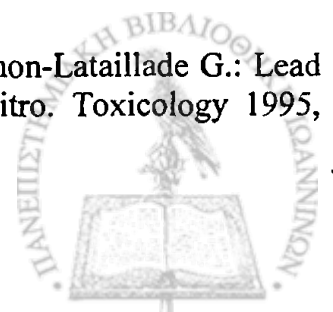


- Pastor J., Alia M., Hernandez AJ., Adarve MJ., Urcelay A., Anton FA.: Ecotoxicological studies on effects of landfill leachate on plants and animals in central Spain. *Sci. Tot. Env.* 1993 :127-134.
- Payette Y., Lachapelle M., Daniel C., Bernier J., Fournier M., Krzystyniak K.: Decreased interleukin-2 receptor and cell cycle changes in murine lymphocytes exposed in vitro to low doses of cadmium chloride. *Int. J. Immunopharmacol.* 1995, 17(3): 235-246.
- Payne BJ., Saunders LZ.: Heavy metal nephropathy of rodents. *Vet. Pathol. Suppl.* 1978, 15(5): 51-87.
- Pearce SG., Grace ND., Firth EC., Wichtel JJ., Holle SA., Fennessy PF.: Effect of copper supplementation on the copper status of pasture-fed young Thoroughbreds. *Equine Vet. J.* 1998, 30(3): 204-210.
- Percival SS.: Copper and immunity. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1998, 67(5): 1064S-1068S.
- Perry HM Jr., Erlanger MW.: Effect of diet on increases in systolic pressure induced in rats by chronic cadmium feeding. *J. Nutr.*, 1982, 112(10): 1983-1989.
- Podracka L., Sasinka M., Racz O., Sipulova A., Gayova E., Horska M., Boor A.: [Relation between metabolism of trace elements and the antioxidant defence system in chronic nephropathies] abstract *Cas. Lek. Cesk.* 1999, 138: 337-339.
- Potolicchio I., Mosconi G., Forni A., Nemery B., Seghizzi P., Sorrentino R.: Susceptibility to hard metal lung disease is strongly associated with the presence of glutamate 69 in HLA-DP beta chain. *Eur. J. Immunol.* 1997, 27(10): 2741-2743.
- Prasad A.S.: Clinical spectrum and diagnostic aspects of human zinc deficiency. In: *Essential and toxic Elements in Human Health and Disease*. Edited by A.S. Prasad 1988, New York 3 – 53.
- Prasad A.S.: Effect of trace element imbalance in human diseases. In: *Nordic Symposium Proceedings, Metabolism of trace elements related to human diseases, June 1985*, 94 – 103.
- Prasad AS.: Clinical and biochemical manifestations of zinc deficiency in human subjects. *J. Am. Coll. Nutr.*, 1985, 4(1): 65 - 72.
- Prasad AS.: Clinical manifestations of zinc deficiency. *Annu. Rev. Nutr.*, 1985, 5: 341 - 363.
- Prasad AS.: Zinc deficiency in women, infants and children. *J. Am. Coll. Nutr.*, 1996, 15(2): 113 - 120.
- Prohaska JR., Bailey WR.: Regional specificity in alterations of rat brain copper and catecholamines following perinatal copper deficiency. *J. Neurochem.* 1994, 63(4): 1551-1557.
- Renault E. and Deschatrette J.: Alterations of rat hepatoma cell genomes induced by copper deficiency. *Nutr. Cancer*, 1997, 29(3): 242 - 247.
- Richards M.P. and Cousins R.J.: Metallothionein and its relationship to the metabolism of dietary zinc in the rat. *J. Nutr.*, 1976, 106: 1591 – 1599.
- Richmond VL., Chi EY.: Ultrastructural observations in copper-deficient guinea-pig lung cells. *Int. J. Exp. Pathol.* 1993, 74(2): 133-143.
- Rifkind JM., Heim JM.: Interaction of zinc and hemoglobin: binding of zinc and oxygen affinity. *Biochem.* 1977, 16(20): 4438-4443.
- Ringler DH., Dabich L.: *Hematology and Clinical biochemistry In: The laboratory rat. 1979 Acad. Press. Vol. I, 105 – 121*
- Riordan JF., Vallee BL.: *Metallobiochemistry. Methods in Enzymology. Academic, 1988, 158.*
- Ritaland S. and Aaseth J.: Trace elements and the liver In: *Nordic Symposium Proceedings, Metabolism of trace elements related to human diseases, June 1985*, 195 – 201.
- Roberts P., Hegi H.R., Weber A., Kräbenbühl: Metals in municipal wastewater and their elimination in sewage treatment. *Prog. Wat. Tech.* 1977, 8, 301 – 306.

- Rodriguez E., Diaz C.: Iron, copper and zinc levels in urine: relationship to various individual factors. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 1995, **9**(4): 200-209.
- Roels HA., Hoet P., Lison D.: Usefulness of biomarkers of exposure to inorganic mercury, lead, or cadmium in controlling occupational and environmental risks of nephrotoxicity. *Ren. Fail.* 1999, **21**(3-4): 251-262.
- Rui M., Suzuki KT.: Copper in plasma reflects its status and subsequent toxicity in the liver of LEC rats. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.*, 1997, **98**(3): 335-46.
- Saha AR., Hadden EM., Hadden JW.: Zinc induces thymulin secretion from human thymic epithelial cells in vitro and augments splenocyte and thymocyte responses in vivo. *Int. J. Immunopharmacol.* 1995, **17**(9): 729-733.
- Sandhir R. and Gill KD.: Effect of lead on lipid peroxidation in liver of rats. *Biol. Trace Elem. Res.*, 1995, **48**(1): 91 - 97.
- Sandstrom B.: Consideration in estimates of requirements and critical intake of zinc. Adaptation, availability and interactions. *Analyst*, 1995, **120**(3): 913 - 5.
- Sarkar S., Yadav P., Bhatnagar D.: Lipid peroxidative damage on cadmium exposure and alterations in antioxidant system in rat erythrocytes: a study with relation to time. *Biometals*, 1998, **11**(2): 153-157.
- Sarricolea ML., Villa-Elizaga I., Lopez J.: Respiratory distress syndrome in copper deficiency: an experimental model developed in rats. *Biol. Neonate.* 1993, **63**(1): 14-25.
- Sato M. and Nagai Y.: Effect of zinc deficiency on the accumulation of metallothionein and cadmium in the rat liver and kidney. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 1989, **18**(4): 587 - 93.
- Saxena DK., Murthy RC., Singh C., Chandra SV.: Zinc protects testicular injury induced by concurrent exposure to cadmium and lead in rats. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 1989, **64**(2): 317-329.
- Scheinberg I.H.: The effects of Heredity and Environment on Copper Metabolism. In: *The Medical clinics of North America*, 1976, 705-713.
- Schröder H. Fr: Identification of non- biodegradable, hydrophilic, organic substances in industrial and municipal waste water treatment plant – effluents by liquid chromatography – tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). *Wat. Sci. Tech.*, 1991, **23**: 339 – 347.
- Schuschke DA.: Dietary copper in the physiology of the microcirculation. *J. Nutr.*, 1997, **127**(12): 2274-81
- Seeling W., Ahnefeld FW., Dick W. and Fodor L.: The biological significance of zinc. *Anaesthesist*, 1975, **24**(8): 329 -342.
- Shankar AH., Prasad AS.: Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. *Am. J. Clin. Nutr.* 1998, **68**(2): 447-463.
- Shen Y., Sangiah S.: Na⁺, K⁽⁺⁾-ATPase, glutathione and hydroxyl free radicals in cadmium chlorine-induced testicular toxicity in mice. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1995, **29**(2): 174-179.
- Siegel R.C.: Lysyl oxidase. *Int. Rev. Connect Tissue Res.* 1979, **8**: 73 – 118.
- Silbergeld EK., Sauk J., Somerman M., Todd A., McNeill F., Fowler B., Fontaine A., van Buren J.: Lead in bone: storage site, exposure source and target organ. *Neurotoxicology* 1993, **14**(2-3): 225-236.
- Simkin P.A.: Oral zinc sulphate in rheumatoid arthritis. *Lancet*, 1976, **2**: 539 – 542.
- Singh AK., Ashraf M.: Neurotoxicity in rats sub-chronically exposed to low levels of lead. *Vet. Hum. Toxicol.* 1989, **31**(1): 21-25.
- Skandhan KP.: Review on copper in male reproduction and contraception. *Rev. Fr. Gynecol. Obstet.* 1992, **87**: 594-598.



- Smith DR., Kahng MW., Quintanilla-Vega B. and Fowler BA.: High-affinity renal lead-binding proteins in environmentally-exposed humans. *Chem. Biol. Interact.*, 1998, **115(1)**: 39 - 52.
- Song M.K. and Adham N.F.: Metabolic influences on intestinal zinc uptake in rats. *Biochem. Arch.*, 1985, **1**: 75 - 83.
- Staessen JA., Buchet JP., Ginucchio G., Lauwerys RR., Lijnen P., Roels H., Fagard R.: Public health implications of environmental exposure to cadmium and lead: an overview of epidemiological studies in Belgium. Working Groups. *J. Cardiovasc. Risk*. 1996, **3(1)**: 26-41.
- Stallard L., Reeves PG.: Zinc deficiency in adult rats reduces the relative abundance of testis-specific angiotensin-converting enzyme mRNA. *J. Nutr.*, 1997, **127(1)**: 25-29.
- Stennard FA., Stewart TC., West AK.: Effect of prior, low-level cadmium exposure in vivo on metallothionein expression in cultured lymphocytes. *J. Appl. Toxicol.* 1995, **15(1)**: 63-67.
- Stoveland S., Astrue M., Lester J.N., and Perry R.: The balance of heavy metals through a sewage treatment works II, chromium, nickel and zinc. *Sci. Tot. Envir.* 1979.
- Struzynska L., Walski M., Gadamski R., Dabrowska-Bouta B., Rafalowska U.: Lead-induced abnormalities in blood-brain barrier permeability in experimental chronic toxicity. *Mol. Chem. Neuropathol.* 1997, **31(3)**: 207-224.
- Stumm W., and Bilinski A.: Trace metals in natural waters: difficulties in interpretation arising from our ignorance on their speciation. *Proceedings of 6th Int. Conf. in Adv. In Wat. Pollut. Res.*, 1973, : 39 - 49.
- Sugawara N., Lai YR., Sugawara C.: Accumulation of orally given cadmium in Long-Evans Cinnamon (LEC) rats with an inherently abnormal copper metabolism. *Toxicology* 1996, **108(1-2)**: 1-7.
- Sun SH., O'Dell BL.: Low copper status of rats affects polyunsaturated fatty acid composition of brain phospholipids, unrelated to neuropathology. *J. Nutr.* 1992, **122(1)**: 65-73.
- Suzuki M., Yamada T., Miyazaki T. and Kawazoe K.: Sorption and accumulation of Cadmium in the sediment of the Tama river. *Wat. Res.* 1979, **13**: 57 - 63.
- Suzuki Y., Morita I., Yamane Y., Murota S.: Preventive effect of zinc against cadmium-induced bone resorption. *Toxicology* 1990, **62(1)**: 27-34.
- Suzuki Y., Morita I., Yamane Y., Murota S.: Preventive effects of zinc on cadmium-induced inhibition of alkaline phosphatase activity and mineralization activity in osteoblast-like cells, MC3T3-E1. *J. Pharmacobiodyn.* 1989, **12(2)**: 94-99.
- Tandon SK., Singh S., Prasad S. and Mathur N.: Influence of L-lysine and zinc administration during exposure to lead or lead and ethanol in rats. *Biol. Trace Elem. Res.*, 1997, **57(1)**: 51 - 58.
- Tatrai E., Naray M., Brozik M., Adamis Z., Ungvary G.: Combined pulmonary toxicity of diethyldithiocarbamate and lead (II) oxide in rats. *J. Appl. Toxicol.* 1998, **18**: 33-37.
- Taylor AE.: Cardiovascular effects of environmental chemicals. *Otolaryngol. Head Neck. Surg.* 1996, **114(2)**: 209-211.
- Taylor CG., Bray TM.: Increased lung copper-zinc-superoxide dismutase activity and absence of magnetic resonance imaging-detectable lung damage in copper-deficient rats exposed to hyperoxia. *J. Nutr.* 1991, **121(4)**: 467-473.
- Τεχνικό Επιμελητήριο Ελλάδας, Τμήμα Ηπείρου: Η ρύπανση στο λεκανοπέδιο των Ιωαννίνων και οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις. Γιάννενα 1986.
- Thoreux-Manlay A., Le Goascogne C., Segretain D., Jegou B., Pinon-Lataillade G.: Lead affects steroidogenesis in rat Leydig cells in vivo and in vitro. *Toxicology* 1995, **103(1)**: 53-62.



- Thoreux-Manlay A., Velez de la Calle JF., Olivier MF., Soufir JC., Masse R., Pinon-Lataillade G.: Impairment of testicular endocrine function after lead intoxication in the adult rat. *Toxicology* 1995, **100**(1-3): 101-109.
- Tian L., Lawrence DA.: Lead inhibits nitric oxide production in vitro by murine splenic macrophages. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1995, **132**(1): 156-163.
- Toyokuni S., Okada S., Hamazaki S., Fujioka M., Li JL. and Midorikawa O.: Cirrhosis of the liver induced by cupric nitrilotriacetate in Wistar rats. An experimental model of copper toxicosis. *Am. J. Pathol.*, 1989, **134**(6): 1263 - 74.
- Τρακατέλλης Α.: Βιοχημεία, 2^η έκδοση Θεσσαλονίκη, 1993.
- Tsang D., Tsang YS., Ho WK., Wong RN.: Myelin basic protein is a zinc-binding protein in brain: possible role in myelin compaction. *Neurochem. Res.* 1997, **22**(7): 811-819.
- Τσαγκάρης Μ.Ι.: "Ανόργανη Χημεία των αντιπροσωπευτικών στοιχείων" 1983, Παν/μιο Ιωαννίνων, Οργανισμός εκδόσεων διδακτικών βιβλίων.
- Tsangaris GT., Tzortzatos - Stathopoulou F.: Cadmium induces apoptosis differentially in immune system cell lines. *Toxicology* 1998, **128**(2): 143-150.
- Underwood E.J.: In Trace Elements in Human and animal Nutrition, 1977, New York, Acad. Press: 56 - 108.
- Vallee BL., Falchuk KH.: The biochemical basis of zinc physiology. *Phys. Reviews* 1993, **73**(1): 79 - 118.
- Van Niekerk FE., Van Niekerk CH.: The influence of experimentally induced copper deficiency on the fertility of rams. II. Macro- and microscopic changes in the testes. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 1989, **60**(1): 32-35.
- Van Rigg A.M. and Pories W.J.: Zinc and tumor growth. In: Metal ions in biological systems 1990 **10**: 208-241. Edited by Helmut Sigel.
- Verbanac D., Milin C., Radosevic-Stasic B., Trobonjaca Z., et. al.: Tissue zinc dynamics during the immune reaction in mice. *Biol. Trace Elem. Res.* 1998, **65**(2): 97-108.
- Vezyraki P., Kalfakakou V., Papagiannis I., Evangelou A.: Atrial natriuretic peptide relation to plasma and Heart zinc concentrations of Wistar rats exposed to cold and hot ambients. *Biol. Tr. Elem. Res.* 1999, **67**: 215-223.
- Vij AG., Satija NK. and Flora SJ.: Lead induced disorders in hematopoietic and drug metabolizing enzyme system and their protection by ascorbic acid supplementation. *Biomed. Environ. Sci.*, 1998, **11**(1): 7 - 14.
- Vrzgulova M., Vrzgula L., Bires J.: Morphologic characteristics of the testes in breeding rams after experimental loading with industrial emissions containing copper. *Vet. Med.(Praha)* 1995, **40**(4): 105-110.
- Vyskocil A., Cizkova M. and Tejnorova I.: Effect of prenatal and postnatal exposure to lead on kidney function in male and female rats. *J. Appl. Toxicol.*, 1995, **15**(4): 327 - 8.
- Waalkes MP., Rehm S.: Cadmium and prostate cancer. *J. Toxicol. Environ. Health* 1994, **43**(3): 251-269.
- Waalkes MP.: Effect of dietary zinc deficiency on the accumulation of cadmium and metallothionein in selected tissues of the rat. *J. Toxicol. Environ. Health*, 1986, **18**(2): 301 - 313.
- Waara Karl-Otto: Effects of copper, cadmium, lead and zink on nitrate reduction in a synthetic water medium and lake water from Northern Sweden. *Wat. Res.* 1992, **26**: 355 - 364.
- Wahba ZZ., Waalkes MP.: Effects on in vivo low-dose cadmium pretreatment on the in vitro interactions of cadmium with isolated interstitial cells of the rat testes. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1990, **15**(4): 641-650.
- Weiner A.L, Cousins R.J.: Differential regulations of copper and zinc metabolism in rat liver parenchymal cells in primary cultures. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1983, **173**(4): 486 - 494.

- Wellinghausen N., Rink L.: The significance of zinc for leukocyte biology. *J. Leukoc. Biol.*, 1998, **64**(5): 571-577.
- Werman M.J., Law J.S., Castro J.S., Bhathena S.J.: Effects of zinc and Copper interactions in rats. In: *Proceedings of the 2nd International Symposium on Metal ions in Biology and Medicine*, 1992, **2**, 377 – 378.
- Wills MR and Savory J.: Lymphocyte analysis in the assessment of total –body burden of trace metals. In: *Nordic Symposium Proceedings, Metabolism of trace elements related to human diseases*, June 1985, 424 – 427.
- Wilson J., Kim S., Allen KG., Baillie R. and Clarke SD.: Hepatic fatty acid synthase gene transcription is induced by a dietary copper deficiency. *Am. J. Physiol.*, 1997, **272**(6 Pt 1): E1124 - 1129.
- Yamano T., Shimizu M., Noda T.: Comparative effects of repeated administration of cadmium on kidney, spleen, thymus and bone marrow in 2-,4- and 8- month-old male wister rats. *Toxicol. Sci.* 1998, **46**(2): 393-402.
- Yan H., Carter CE., Xu C., Singh PK., Jones MM., Johnson JE., Dietrich MS.: Cadmium-induced apoptosis in the urogenital organs of the male rat and its suppression by chelation. *J. Toxicol. Environ. Health* 1997, **52**(2): 149-168.
- Yanagisawa H., Nodera M. and Wada O.: Zinc deficiency aggravates tubulointerstitial nephropathy caused by ureteral obstruction. *Biol. Trace Elem. Res.*, 1998, **65**(1): 1 - 6.
- Yee CD., Kubena KS., Walker M., Champney TH., Sampson HW.: The relationship of nutritional copper to the development of postmenopausal osteoporosis in rats. *Biol. Trace Elem. Res.* 1995, **48**(1): 1-11.
- Yoshida M., Fukumoto M., Koshimoto T., Yamamura Y., Shimizu H., Sakai O.: Effects of zinc, selenium and calcium in primary cultures of rat renal proximal epithelial cells. *Biol. Trace Elem. Res.* 1993, **36**: 219-227.
- Zakrzewska M., Sawicka-Kapusta K., Perdenia A., Wosik A.: Heavy metals in bank voles from Polish national parks. *Sci Tot. Env.* 1993: 167-172.
- Zelikoff JT., Parsons E., Schlesinger RB.: Inhalation of particulate lead disrupts pulmonary macrophage-mediated functions important for host defense and tumor surveillance in the lung. *Environ. Res.* 1993, **62**(2): 207-222.
- Zheng W., Blaner WS., Zhao Q.: Inhibition by lead of production and secretion of transthyretin in the choroid plexus: its relation to thyroxine transport at blood-CSF barrier. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1999, **155**(1): 24-31.
- Ziganshin AU., Ziganshina LE., Hoyle CH., Burnstock G.: Effects of divalent cations and La³⁺ on contractility and ecto-ATPase activity in the guinea-pig urinary bladder. *Br. J. Pharmacol.* 1995, **114**(3): 632-639.
- Zikic RV., Stajn AS., Ognjanovic BI., Saicic ZS., Kostic MM., Pavlovic SZ., Petrovic VM.: The effect of cadmium and selenium on the antioxidant enzyme activities in rat heart. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 1998, **17**(3-4): 259-264.



11. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

| Μέσο Βάρος των ομάδων ανά μήνα | | | | | |
|--------------------------------|----------------|-------------|---------|----------|----------|
| Μήνες | Π1 (αυτ. λύμα) | Π5(ελέγχου) | Π2(1:5) | Π3(1:10) | Π4(pH<7) |
| 1ος | 220,0 | 229,2 | 227,1 | 230,2 | 221,9 |
| 2ος | 263,8 | 267,1 | 270,7 | 276,4 | 273,2 |
| 3ος | 300,2 | 303,1 | 311,7 | 319,1 | 311,6 |
| 4 | 325,7 | 326,3 | 336,3 | 348,3 | 341,6 |
| 5 | 343,1 | 345,0 | 355,4 | 363,9 | 360,1 |
| 6 | 356,7 | 362,9 | 370,4 | 377,3 | 372,3 |
| 7 | 363,5 | 372,5 | 379,4 | 388,8 | 381,5 |
| 8 | 371,9 | 373,3 | 373,8 | 384,8 | 383,5 |
| 9 | 380,6 | 381,3 | 382,7 | 394,2 | 392,1 |
| 10 | 379,8 | 375,0 | 378,8 | 394,0 | 383,5 |
| 11 | 363,3 | 382,1 | 384,4 | 399,6 | 378,5 |
| 12 | 365,9 | 385,4 | 380,6 | 399,6 | 382,3 |
| 13 | 362,1 | 395,0 | 377,8 | 405,8 | 378,5 |
| 14 | 360,0 | 403,8 | 376,8 | 405,3 | 378,2 |
| 15 | 369,7 | 408,9 | 375,3 | 406,6 | 374,1 |
| 16 | 365,0 | 414,6 | 373,3 | 405,1 | 370,9 |
| 17 | 358,1 | 418,3 | 369,1 | 407,4 | 367,8 |
| 18 | 354,4 | 418,8 | 366,7 | 406,8 | 357,0 |
| 19 | 349,0 | 427,1 | 361,2 | 408,5 | 351,3 |
| 20 | 345,6 | 425,0 | 357,7 | 404,6 | 343,2 |
| 21 | 309,6 | 420,0 | 353,9 | 403,4 | 330,6 |
| 22 | 294,8 | 417,0 | 350,6 | 400,1 | 318,3 |
| 23 | 290,9 | 418,4 | 347,9 | 402,3 | 311,3 |
| 24 | 288,3 | 418,7 | 345,3 | 399,3 | 301,8 |
| 25 | 281,7 | 419,1 | 341,4 | 396,2 | 293,5 |
| 26 | 280,6 | 416,5 | 342,6 | 395,6 | 291,6 |
| 27 | 278,3 | 413,2 | 341,9 | 390,2 | 288,9 |
| 28 | 276,1 | 409,3 | 343,5 | 387,1 | 283,4 |
| 29 | 277,5 | 403,8 | 340,8 | 385,9 | 281,6 |
| 30 | 280,3 | 399,6 | 341,7 | 381,4 | 279,1 |

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΓΙΑ ΤΟ ΒΑΡΟΣ

| | Π1 | Π5 | Π4 | Π5 | |
|---------------------------|--------------|-----------------------|---------------------------|-------------|-------------|
| Μέσος | 325,2194907 | 385,00019 | Μέσος | 336,0931019 | 385,0001852 |
| Διακύμανση | 1901,301728 | 2309,1376 | Διακύμανση | 2007,677581 | 2309,137595 |
| Μέγεθος δείγματος | 30 | 30 | Μέγεθος δείγματος | 30 | 30 |
| Υποτιθέμενη διαφορά μέσων | 0 | 0 | Υποτιθέμενη διαφορά μέσων | 0 | 0 |
| βαθμοί ελευθερίας | 57 | 57 | βαθμοί ελευθερίας | 58 | 58 |
| t | -5,046123514 | t | -4,077093428 | | |
| P(T<=t) μονόπλευρη | 2,45497E-06 | P(T<=t) μονόπλευρη | 7,03301E-05 | | |
| t κρίσιμο, μονόπλευρο | 1,672028702 | t κρίσιμο, μονόπλευρο | 1,671553491 | | |
| P(T<=t) δίπλευρη | 4,90994E-06 | P(T<=t) δίπλευρη | 0,00014066 | | |
| t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,002466317 | t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,001715984 | | |



ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΕΝΙΚΗΣ ΑΙΜΑΤΟΣ

| WBC (K/ul) | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| Ομ.Π1 | 3,89 | 1,52 | 1,2 | 0,508 | 0,597 |
| ομ.Π5(control) | 3,89 | 3,3 | 2,63 | 2,45 | 1,94 |
| ομ.Π2(1:5) | 3,89 | 2,58 | 2,07 | 1,83 | 1,28 |
| Ομ.Π3(1:10) | 3,89 | 2,47 | 1,76 | 1,57 | 1,62 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 3,89 | 1,87 | 1,58 | 1,64 | 0,707 * |

| LYM (K/ul) | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| Ομ.Π1 | 2,94 | 0,94 | 0,61 | 0,359 | 0,31 |
| ομ.Π5(control) | 2,94 | 2,6 | 2,21 | 1,9 | 1,64 |
| ομ.Π2(1:5) | 2,94 | 1,94 | 1,55 | 1,45 | 1,13 |
| Ομ.Π3(1:10) | 2,94 | 1,7 | 1,23 | 1,18 | 1,09 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 2,94 | 1,108 | 0,742 | 0,83 | 0,407 |

| NEU (K/ul) | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| Ομ.Π1 | 0,35 | 0,584 | 0,631 | 0,132 | 0,24 |
| ομ.Π5(control) | 0,35 | 0,42 | 0,38 | 0,312 | 0,307 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,35 | 0,427 | 0,477 | 0,405 | 0,424 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,35 | 0,43 | 0,36 | 0,385 | 0,309 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,35 | 0,614 | 0,799 | 0,675 | 0,26 |

| mono (K/ul) | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| Ομ.Π1 | 0,26 | 0,005 | 0,023 | 0,078 | 0,05 |
| ομ.Π5(control) | 0,26 | 0,17 | 0,02 | 0,01 | 0,047 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,26 | 0,16 | 0,073 | 0,08 | 0,11 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,26 | 0,1 | 0,05 | 0,03 | 0,015 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,26 | 0,125 | 0,03 | 0,043 | 0,013 |

| PLT (K/ul) | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| Ομ.Π1 | 872 | 300 | 92,2 | 215,4 | 234,2 |
| ομ.Π5(control) | 872 | 841 | 501 | 342,3 | 344 |
| ομ.Π2(1:5) | 872 | 552 | 362 | 298 | 343,5 |
| Ομ.Π3(1:10) | 872 | 420 | 145 | 484 | 248,8 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 872 | 528 | 293 | 366 | 642 |

| | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| Ομ.Π1 | 40,8 | 41,6 | 42,2 | 34,6 | 43,0 |
| ομ.Π5(control) | 40,8 | 42,9 | 43,4 | 34,9 | 45,5 |
| ομ.Π2(1:5) | 40,8 | 41,2 | 43,7 | 35,9 | 45,3 |
| Ομ.Π3(1:10) | 40,8 | 39,8 | 40,4 | 36,9 | 46,4 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 40,8 | 40,3 | 31,6 | 34,4 | 43,5 |

| RBC M/ul | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| Ομ.Π1 | 7,42 | 6,98 | 7,61 | 6,4 | 8,1 |
| ομ.Π5(control) | 7,42 | 7,15 | 7,9 | 6,7 | 8,5 |
| ομ.Π2(1:5) | 7,42 | 7,36 | 7,9 | 7,0 | 8,4 |
| Ομ.Π3(1:10) | 7,42 | 7,54 | 7,49 | 7,1 | 8,4 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 7,42 | 7,24 | 6 | 6,7 | 8,0 |



ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

| Κρεατινίνη (mg/dl) | | | |
|--------------------|----------|----------|----------|
| Ομάδες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
| Ομ.Π1 | 0,6 | 0,77 | 0,9 |
| ομ.Π5(control) | 0,9 | 0,83 | 0,73 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,7 | 0,83 | 0,85 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,65 | 0,90 | 0,81 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,75 | 0,77 | 0,76 |

| AST (u/l) | | | |
|----------------|----------|----------|----------|
| Ομάδες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
| Ομ.Π1 | 243 | 153,33 | 115 |
| ομ.Π5(control) | 223 | 206,33 | 110,33 |
| ομ.Π2(1:5) | 187 | 217,67 | 159 |
| Ομ.Π3(1:10) | 296 | 137,00 | 116 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 175 | 199,00 | 125,33 |

| ALT (u/l) | | | |
|----------------|----------|----------|----------|
| Ομάδες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
| Ομ.Π1 | 77 | 72,67 | 100 |
| ομ.Π5(control) | 82 | 115,00 | 62,33 |
| ομ.Π2(1:5) | 56 | 75,33 | 88,67 |
| Ομ.Π3(1:10) | 127,5 | 47,00 | 65,67 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 58 | 65,33 | 74 |

| Σάκχαρο (mg/dl) | | | |
|-----------------|----------|----------|----------|
| Ομάδες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
| Ομ.Π1 | 166 | 174,67 | 230 |
| ομ.Π5(control) | 188 | 146,00 | 158 |
| ομ.Π2(1:5) | 181 | 222,67 | 201,33 |
| Ομ.Π3(1:10) | 146 | 164,67 | 185,67 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 196,5 | 182,33 | 164,33 |

ΜΕΣΕΣ ΤΙΜΕΣ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΟΥΡΩΝ 24ΩΡΟΥ

| | Cd µg/ούρα 24ωρου | | | | |
|------------|-------------------|----------------|------------|-------------|-------------|
| | Ομάδα Π1 | Ομ.Π5(Control) | Ομ.Π2(1:5) | Ομ.Π3(1:10) | Ομ.Π4(pH<7) |
| 0 μήνες | 0,11 | 0,11 | 0,11 | 0,11 | 0,11 |
| 2ος μήνας | 0,206 | 0,260 | 0,305 | 0,364 | 0,358 |
| 4ος μήνας | 0,340 | 0,309 | 0,388 | 0,357 | 0,440 |
| 9ος μήνας | 0,460 | 0,309 | 0,427 | 0,413 | 0,595 |
| 13ος μήνας | 0,450 | 0,317 | 0,423 | 0,405 | 0,504 |
| 18ος μήνας | 0,429 | 0,267 | 0,349 | 0,291 | 0,396 |
| 21ος μήνας | 0,398 | 0,253 | 0,291 | 0,276 | 0,320 |
| 22ος μήνας | 0,333 | 0,246 | 0,278 | 0,218 | 0,360 |
| 24ος μήνας | 0,392 | 0,267 | 0,337 | 0,326 | 0,456 |

| | Cu µg/ούρα 24ωρου | | | | |
|------------|-------------------|----------------|------------|-------------|-------------|
| | Ομάδα Π1 | Ομ.Π5(Control) | Ομ.Π2(1:5) | Ομ.Π3(1:10) | Ομ.Π4(pH<7) |
| 0 μήνας | 3,54 | 3,54 | 3,54 | 3,54 | 3,54 |
| 2ος μήνας | 10,007 | 5,05 | 6,466 | 7,122 | 6,332 |
| 4ος μήνας | 6,9 | 3,78 | 4,895 | 6,197 | 7,549 |
| 9ος μήνας | 7,14 | 4,56 | 3,978 | 5,04 | 6,24 |
| 13ος μήνας | 6,4 | 4,02 | 3,278 | 4,5 | 7,02 |
| 18ος μήνας | 6,15 | 4,846 | 5,295 | 4,98 | 6,72 |
| 21ος μήνας | 3,447 | 5,2 | 3,768 | 4,14 | 4,68 |
| 22ος μήνας | 2,4 | 4,56 | 2,899 | 4,457 | 3,923 |
| 24ος μήνας | 3,3 | 5,76 | 6,46 | 7,507 | 4,791 |

| | Pb $\mu\text{g}/\text{ουρα}$ 24ωρου | | | | |
|------------|-------------------------------------|----------------|------------|-------------|-------------|
| | Ομαδα Π1 | Ομ.Π5(Control) | Ομ.Π2(1:5) | Ομ.Π3(1:10) | Ομ.Π4(pH<7) |
| 0 μήνας | 0,23 | 0,23 | 0,23 | 0,23 | 0,23 |
| 2ος μήνας | 2,200 | 1,840 | 2,859 | 3,181 | 2,527 |
| 4ος μήνας | 2,490 | 1,700 | 2,165 | 2,010 | 2,340 |
| 9ος μήνας | 2,630 | 1,530 | 2,300 | 1,800 | 2,180 |
| 13ος μήνας | 3,085 | 1,800 | 1,680 | 2,103 | 2,000 |
| 18ος μήνας | 2,600 | 1,630 | 1,990 | 1,923 | 2,170 |
| 21ος μήνας | 2,405 | 1,530 | 1,929 | 1,634 | 2,150 |
| 22ος μήνας | 2,370 | 1,580 | 1,740 | 1,860 | 2,070 |
| 24ος μήνας | 2,840 | 1,400 | 2,080 | 1,664 | 2,539 |

| | Zn $\mu\text{g}/\text{ουρα}$ 24ωρου | | | | |
|------------|-------------------------------------|----------------|------------|-------------|-------------|
| | Ομαδα Π1 | Ομ.Π5(Control) | Ομ.Π2(1:5) | Ομ.Π3(1:10) | Ομ.Π4(pH<7) |
| 0 μήνας | 4,62 | 4,62 | 4,62 | 4,62 | 4,62 |
| 2ος μήνας | 13,2 | 8,24 | 9,272 | 8,179 | 8,667 |
| 4ος μήνας | 10,56 | 8,89 | 9,69 | 11,29 | 13,23 |
| 9ος μήνας | 11,60 | 8,65 | 10,32 | 10,49 | 12,45 |
| 13ος μήνας | 12,40 | 13,2 | 11,20 | 10,41 | 9,63 |
| 18ος μήνας | 12,86 | 9,52 | 11,57 | 10,96 | 13,74 |
| 21ος μήνας | 9,10 | 12,94 | 9,60 | 6,70 | 10,50 |
| 22ος μήνας | 10,03 | 15,16 | 11,47 | 12,78 | 8,92 |
| 24ος μήνας | 8,80 | 15,56 | 13,30 | 14,40 | 11,71 |

Σπλήνας

Μέσες τιμές μετάλλων στην σπλήνα για κάθε περίοδο

| Cd $\mu\text{g}/\text{gr}$ | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 0,026 | 0,5641 | 0,6315 | 0,578 | 0,8301 |
| ομ.Π5(control) | 0,026 | 0,056 | 0,3592 | 0,387 | 0,427 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,026 | 0,4788 | 0,569 | 0,476 | 0,6465 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,026 | 0,417 | 0,567 | 0,502 | 0,5445 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,026 | 0,284 | 0,663 | 0,4558 | 0,5829 |

| Cu $\mu\text{g}/\text{gr}$ | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 2,83 | 4,7506 | 4,1057 | 5,5605 | 5,4627 |
| ομ.Π5(control) | 2,83 | 4,3015 | 4,3268 | 5,1923 | 4,8274 |
| ομ.Π2(1:5) | 2,83 | 4,4337 | 3,4263 | 4,9715 | 4,7256 |
| Ομ.Π3(1:10) | 2,83 | 5,367 | 4,2287 | 5,1141 | 4,3272 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 2,83 | 4,5931 | 4,457 | 5,8508 | 4,5389 |

| Pb $\mu\text{g}/\text{gr}$ | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 1,0625 | 3,2819 | 3,1382 | 2,8764 | 3,8239 |
| ομ.Π5(control) | 1,0625 | 1,8706 | 2,2207 | 2,3115 | 2,2706 |
| ομ.Π2(1:5) | 1,0625 | 1,6447 | 2,4422 | 2,3781 | 2,7014 |
| Ομ.Π3(1:10) | 1,0625 | 2,6311 | 2,0872 | 2,5804 | 2,9745 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 1,0625 | 2,9721 | 2,6963 | 1,9478 | 2,8442 |

| Zn $\mu\text{g}/\text{gr}$ | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 39,66 | 55,29 | 55,85 | 62,93 | 78,31 |
| ομ.Π5(control) | 39,66 | 43,91 | 65,47 | 63,21 | 68,11 |
| ομ.Π2(1:5) | 39,66 | 44,99 | 44,33 | 53,95 | 70,40 |
| Ομ.Π3(1:10) | 39,66 | 60,54 | 70,63 | 73,29 | 64,63 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 39,66 | 51,94 | 60,40 | 72,11 | 68,49 |

| Νεφρός | | | | | |
|---|---------|---------|----------|----------|----------|
| Μέσες τιμές μετάλλων στην σπλήνα για κάθε περίοδο | | | | | |
| Cd µg/gr | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
| ομ.Π1 | 0,235 | 0,513 | 0,485 | 0,476 | 0,619 |
| ομ.Π5(control) | 0,235 | 0,304 | 0,307 | 0,364 | 0,346 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,235 | 0,381 | 0,368 | 0,452 | 0,471 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,235 | 0,344 | 0,404 | 0,445 | 0,386 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,235 | 0,447 | 0,349 | 0,552 | 0,581 |

| Cu µg/gr | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 4,231 | 5,81 | 7,681 | 7,2 | 12,178 |
| ομ.Π5(control) | 4,231 | 5,669 | 6,489 | 5,002 | 6,062 |
| ομ.Π2(1:5) | 4,231 | 4,546 | 8,349 | 7,96 | 9,121 |
| Ομ.Π3(1:10) | 4,231 | 6,063 | 7,376 | 5,957 | 8,56 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 4,231 | 6,106 | 8,441 | 6,641 | 9,976 |

| Pb µg/gr | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 1,152 | 1,750 | 2,101 | 2,904 | 3,799 |
| ομ.Π5(control) | 1,152 | 1,050 | 1,250 | 1,778 | 1,640 |
| ομ.Π2(1:5) | 1,152 | 1,438 | 1,767 | 2,025 | 1,920 |
| Ομ.Π3(1:10) | 1,152 | 1,414 | 1,568 | 2,181 | 1,590 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 1,152 | 1,602 | 1,859 | 2,502 | 2,271 |

| Zn µg/gr | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 20,683 | 21,227 | 48,802 | 45,487 | 49,135 |
| ομ.Π5(control) | 20,683 | 26,281 | 33,629 | 39,645 | 44,145 |
| ομ.Π2(1:5) | 20,683 | 28,869 | 52,939 | 54,823 | 43,091 |
| Ομ.Π3(1:10) | 20,683 | 21,381 | 39,032 | 42,034 | 43,437 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 20,683 | 26,534 | 47,117 | 50,654 | 46,966 |

| ΟΥΡΟΔΟΧΟΣ ΚΥΣΤΗ | | | | | |
|---|--|--|--|--|--|
| Μέσες τιμές μετάλλων στην ουρ. κυστη για κάθε περίοδο | | | | | |

| Cd µg/ml | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 0,031 | 0,235 | 0,393 | 0,350 | 0,413 |
| ομ.Π5(control) | 0,031 | 0,164 | 0,184 | 0,196 | 0,220 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,031 | 0,205 | 0,311 | 0,276 | 0,317 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,031 | 0,188 | 0,236 | 0,242 | 0,282 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,031 | 0,225 | 0,343 | 0,259 | 0,394 |

| Cu µg/ml | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 0,854 | 1,063 | 1,345 | 1,348 | 1,640 |
| ομ.Π5(control) | 0,854 | 0,933 | 1,105 | 1,273 | 1,227 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,854 | 1,089 | 1,220 | 1,404 | 1,356 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,854 | 0,965 | 1,133 | 1,209 | 1,262 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,854 | 1,133 | 1,494 | 1,644 | 1,589 |

| Pb µg/ml | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 0,648 | 1,187 | 1,460 | 1,430 | 1,751 |
| ομ.Π5(control) | 0,648 | 0,915 | 1,081 | 1,116 | 1,391 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,648 | 0,963 | 1,222 | 1,349 | 1,307 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,648 | 0,988 | 1,173 | 1,162 | 1,386 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,648 | 1,115 | 1,341 | 1,307 | 1,514 |

| Zn µg/ml | | | | | |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| Zn µg/gr | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
| ομ.Π1 | 12,784 | 18,699 | 23,529 | 23,835 | 25,935 |
| ομ.Π5(control) | 12,784 | 15,321 | 21,460 | 19,585 | 24,423 |
| ομ.Π2(1:5) | 12,784 | 15,986 | 24,708 | 22,869 | 28,515 |
| Ομ.Π3(1:10) | 12,784 | 16,145 | 25,119 | 27,056 | 27,447 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 12,784 | 18,621 | 23,204 | 30,182 | 32,314 |

ΜΕΣΕΣ ΤΙΜΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΤΥΦΛΩΝ (BLANK) ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ:

Cu: 0.01 ± 0.005 Cd: 0.002 ± 0.001
 Zn: 0.030 ± 0.010 Cr: 0.015 ± 0.005
 Pb: 0.007 ± 0.002

ΜΕΣΕΣ ΤΙΜΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ

| Όρχεις | |
|--|--|
| Μέσες τιμές μετάλλων στους όρχεις για κάθε περίοδο | |

| Cd µg/ml | | | | | |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
| ομ.Π1 | 0,102 | 0,291 | 0,327 | 0,389 | 0,377 |
| ομ.Π5(control) | 0,102 | 0,110 | 0,194 | 0,216 | 0,234 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,102 | 0,245 | 0,279 | 0,295 | 0,316 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,102 | 0,213 | 0,257 | 0,264 | 0,303 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,102 | 0,183 | 0,272 | 0,279 | 0,348 |

| Cu µg/ml | | | | | |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
| ομ.Π1 | 1,124 | 1,653 | 2,260 | 2,400 | 3,184 |
| ομ.Π5(control) | 1,124 | 1,860 | 2,544 | 1,980 | 2,520 |
| ομ.Π2(1:5) | 1,124 | 1,854 | 1,874 | 2,110 | 2,491 |
| Ομ.Π3(1:10) | 1,124 | 1,817 | 2,260 | 2,210 | 2,355 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 1,124 | 1,969 | 2,660 | 2,917 | 3,075 |

| Pb µg/ml | | | | | |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
| ομ.Π1 | 0,482 | 0,842 | 1,560 | 1,470 | 2,085 |
| ομ.Π5(control) | 0,482 | 0,630 | 1,088 | 1,084 | 1,204 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,482 | 0,788 | 1,482 | 1,365 | 1,260 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,482 | 0,675 | 1,116 | 1,282 | 1,412 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,482 | 0,978 | 1,341 | 1,547 | 1,836 |

| Zn µg/ml | | | | | |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
| ομ.Π1 | 14,827 | 21,816 | 36,475 | 34,291 | 41,795 |
| ομ.Π5(control) | 14,827 | 18,288 | 28,700 | 21,325 | 39,201 |
| ομ.Π2(1:5) | 14,827 | 16,319 | 30,900 | 23,201 | 38,463 |
| Ομ.Π3(1:10) | 14,827 | 19,453 | 34,571 | 30,771 | 39,329 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 14,827 | 20,266 | 39,016 | 33,236 | 40,084 |

| ΉΠΑΡ | |
|--|--|
| Μέσες τιμές μετάλλων στους ήπαρ για κάθε περίοδο | |

| Cd µg/gr | | | | | |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
| ομ.Π1 | 0,206 | 0,396 | 0,471 | 0,455 | 0,52 |
| ομ.Π5(control) | 0,206 | 0,252 | 0,246 | 0,286 | 0,315 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,206 | 0,258 | 0,299 | 0,349 | 0,381 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,206 | 0,282 | 0,271 | 0,331 | 0,394 |

| | | | | | |
|-------------|-------|-------|-------|-----|-------|
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,206 | 0,381 | 0,359 | 0,4 | 0,499 |
|-------------|-------|-------|-------|-----|-------|

| Cu µg/gr | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 2,963 | 3,124 | 4,154 | 4,088 | 5,903 |
| ομ.Π5(control) | 2,963 | 3,399 | 3,468 | 3,901 | 3,846 |
| ομ.Π2(1:5) | 2,963 | 4,281 | 4,384 | 5,023 | 5,562 |
| Ομ.Π3(1:10) | 2,963 | 3,529 | 3,913 | 4,433 | 4,334 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 2,963 | 3,552 | 4,702 | 4,478 | 5,421 |

| Pb µg/gr | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 0,516 | 1,695 | 2,164 | 2,295 | 2,771 |
| ομ.Π5(control) | 0,516 | 0,629 | 0,964 | 1,227 | 1,415 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,516 | 1,077 | 0,859 | 1,617 | 1,753 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,516 | 1,281 | 1,086 | 1,804 | 1,874 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,516 | 1,513 | 1,803 | 1,876 | 1,944 |

| Zn µg/gr | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 26,832 | 34,3 | 51,806 | 48,765 | 54,646 |
| ομ.Π5(control) | 26,832 | 29,474 | 40,5 | 42,873 | 46,3 |
| ομ.Π2(1:5) | 26,832 | 27,058 | 43,008 | 43,688 | 48,613 |
| Ομ.Π3(1:10) | 26,832 | 43,996 | 47,268 | 50,204 | 45,013 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 26,832 | 40,21 | 51,916 | 50,313 | 52,135 |

Καρδιά

Μέσες τιμές μετάλλων στους καρδιά για κάθε περίοδο

| Cd µg/ml | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 0,028 | 0,382 | 0,462 | 0,491 | 0,784 |
| ομ.Π5(control) | 0,028 | 0,112 | 0,271 | 0,293 | 0,320 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,028 | 0,272 | 0,425 | 0,463 | 0,521 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,028 | 0,228 | 0,347 | 0,362 | 0,468 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,028 | 0,166 | 0,415 | 0,414 | 0,660 |

| Cu µg/ml | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 3,015 | 3,8588 | 4,3352 | 4,7737 | 6,2508 |
| ομ.Π5(control) | 3,015 | 3,3611 | 4,6605 | 3,9414 | 5,411 |
| ομ.Π2(1:5) | 3,015 | 3,9003 | 5,6699 | 5,4421 | 5,7041 |
| Ομ.Π3(1:10) | 3,015 | 4,2525 | 4,54 | 4,7616 | 5,4409 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 3,015 | 3,4894 | 4,9056 | 4,7676 | 5,8893 |

| Pb µg/ml | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 0,611 | 2,366 | 3,080 | 2,753 | 5,058 |
| ομ.Π5(control) | 0,611 | 1,254 | 1,362 | 1,826 | 2,163 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,611 | 1,410 | 1,570 | 2,412 | 2,850 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,611 | 2,030 | 1,828 | 2,256 | 2,437 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,611 | 2,292 | 3,075 | 2,466 | 3,099 |

| Zn µg/ml | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 18,689 | 24,759 | 32,187 | 30,526 | 34,821 |
| ομ.Π5(control) | 18,689 | 21,173 | 32,715 | 30,713 | 37,752 |
| ομ.Π2(1:5) | 18,689 | 20,664 | 21,797 | 29,606 | 38,873 |
| Ομ.Π3(1:10) | 18,689 | 23,208 | 28,614 | 34,614 | 38,785 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 18,689 | 20,431 | 33,884 | 43,795 | 44,100 |

Πνεύμονες
Μέσες τιμές μετάλλων στους πνευμονες για κάθε περίοδο

| Cd µg/ml | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 0,098 | 0,3862 | 0,3725 | 0,495 | 0,5126 |
| ομ.Π5(control) | 0,098 | 0,1573 | 0,283 | 0,295 | 0,316 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,098 | 0,297 | 0,3167 | 0,369 | 0,42 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,098 | 0,1611 | 0,3568 | 0,394 | 0,4451 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,098 | 0,2288 | 0,4017 | 0,6035 | 0,6638 |

| Cu µg/ml | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 2,635 | 3,408 | 4,205 | 4,820 | 4,545 |
| ομ.Π5(control) | 2,635 | 3,212 | 3,179 | 4,727 | 4,726 |
| ομ.Π2(1:5) | 2,635 | 2,956 | 3,267 | 4,061 | 4,063 |
| Ομ.Π3(1:10) | 2,635 | 4,706 | 4,761 | 4,094 | 4,853 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 2,635 | 3,938 | 5,505 | 4,706 | 5,189 |

| Pb µg/ml | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 0,937 | 1,720 | 2,347 | 2,320 | 2,630 |
| ομ.Π5(control) | 0,937 | 0,850 | 1,330 | 1,470 | 1,580 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,937 | 1,197 | 1,912 | 1,811 | 1,940 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,937 | 1,060 | 1,467 | 1,503 | 1,882 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,937 | 1,487 | 1,975 | 1,651 | 3,048 |

| Zn µg/ml | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 12,682 | 16,490 | 30,087 | 33,940 | 43,128 |
| ομ.Π5(control) | 12,682 | 18,121 | 46,548 | 36,817 | 47,338 |
| ομ.Π2(1:5) | 12,682 | 14,842 | 27,643 | 42,922 | 49,921 |
| Ομ.Π3(1:10) | 12,682 | 29,409 | 49,948 | 52,067 | 49,418 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 12,682 | 22,965 | 44,029 | 51,011 | 47,537 |

Εγκέφαλος
Μέσες τιμές μετάλλων στους πνευμονες για κάθε περίοδο

| Cd µg/gr | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 0,113 | 0,299 | 0,362 | 0,405 | 0,488 |
| ομ.Π5(control) | 0,113 | 0,132 | 0,266 | 0,283 | 0,291 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,113 | 0,261 | 0,315 | 0,341 | 0,360 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,113 | 0,229 | 0,284 | 0,315 | 0,293 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,113 | 0,246 | 0,287 | 0,345 | 0,419 |

| Cu µg/gr | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 2,147 | 2,216 | 3,142 | 3,192 | 5,128 |
| ομ.Π5(control) | 2,147 | 2,321 | 2,975 | 3,389 | 4,436 |
| ομ.Π2(1:5) | 2,147 | 2,461 | 3,337 | 3,857 | 4,133 |
| Ομ.Π3(1:10) | 2,147 | 3,302 | 3,845 | 3,654 | 4,155 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 2,147 | 2,513 | 3,256 | 3,504 | 4,735 |

| Pb µg/gr | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 0,846 | 1,479 | 1,600 | 2,163 | 2,584 |
| ομ.Π5(control) | 0,846 | 1,136 | 1,099 | 1,466 | 1,587 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,846 | 1,315 | 1,453 | 1,781 | 1,944 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,846 | 1,418 | 1,543 | 1,827 | 1,537 |

| | | | | | |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,846 | 1,626 | 1,187 | 1,739 | 2,105 |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|

| Zn µg/gr | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 19,527 | 45,997 | 35,694 | 33,397 | 50,369 |
| ομ.Π5(control) | 19,527 | 23,984 | 48,718 | 38,205 | 45,472 |
| ομ.Π2(1:5) | 19,527 | 36,174 | 44,218 | 31,098 | 43,641 |
| Ομ.Π3(1:10) | 19,527 | 39,435 | 49,471 | 35,338 | 38,729 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 19,527 | 29,006 | 51,598 | 38,004 | 45,419 |

Οστό

Μέσες τιμές μετάλλων στον οστό για κάθε περίοδο

| Cd µg/gr | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 1,042 | 1,526 | 2,922 | 3,162 | 3,436 |
| ομ.Π5(control) | 1,042 | 1,213 | 1,768 | 1,670 | 1,692 |
| ομ.Π2(1:5) | 1,042 | 1,289 | 1,922 | 1,992 | 1,979 |
| Ομ.Π3(1:10) | 1,042 | 1,437 | 2,002 | 1,809 | 1,904 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 1,042 | 1,452 | 2,127 | 3,121 | 2,788 |

| Cu µg/ml | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 2,034 | 2,894 | 3,028 | 4,195 | 3,865 |
| ομ.Π5(control) | 2,034 | 2,463 | 3,338 | 3,106 | 3,016 |
| ομ.Π2(1:5) | 2,034 | 2,621 | 3,466 | 3,947 | 3,522 |
| Ομ.Π3(1:10) | 2,034 | 2,533 | 3,749 | 3,495 | 3,354 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 2,034 | 2,756 | 4,084 | 4,128 | 4,445 |

| Pb µg/ml | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 8,243 | 16,326 | 30,178 | 29,047 | 28,816 |
| ομ.Π5(control) | 8,243 | 12,535 | 18,921 | 17,656 | 16,896 |
| ομ.Π2(1:5) | 8,243 | 12,986 | 26,497 | 19,884 | 19,166 |
| Ομ.Π3(1:10) | 8,243 | 12,845 | 17,672 | 18,821 | 19,908 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 8,243 | 15,845 | 28,193 | 20,977 | 21,598 |

| Zn µg/ml | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 164,040 | 489,234 | 671,676 | 407,162 | 344,040 |
| ομ.Π5(control) | 164,040 | 231,249 | 297,832 | 464,659 | 362,418 |
| ομ.Π2(1:5) | 164,040 | 205,217 | 200,065 | 298,908 | 335,436 |
| Ομ.Π3(1:10) | 164,040 | 186,397 | 189,977 | 377,568 | 335,033 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 164,040 | 238,699 | 253,368 | 441,199 | 407,523 |

Μύς

Μέσες τιμές μετάλλων στον μύ για κάθε περίοδο

| Cd µg/ml | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 0,054 | 0,292 | 0,552 | 0,432 | 0,445 |
| ομ.Π5(control) | 0,054 | 0,205 | 0,256 | 0,307 | 0,295 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,054 | 0,241 | 0,309 | 0,352 | 0,336 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,054 | 0,185 | 0,313 | 0,376 | 0,301 |



| | | | | | |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,054 | 0,252 | 0,443 | 0,392 | 0,416 |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|

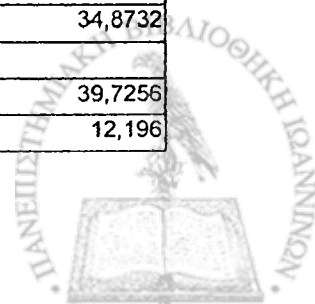
| Cu µg/ml | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 0,719 | 1,1632 | 1,4225 | 1,4483 | 3,0948 |
| ομ.Π5(control) | 0,719 | 1,0235 | 1,211 | 1,4242 | 1,7585 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,719 | 0,968 | 1,0109 | 1,7658 | 1,6776 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,719 | 1,1147 | 1,8568 | 1,6006 | 1,837 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,719 | 1,2364 | 3,08 | 2,06 | 1,9927 |

| Pb µg/ml | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 0,674 | 1,823 | 2,934 | 1,848 | 2,232 |
| ομ.Π5(control) | 0,674 | 0,865 | 1,097 | 1,259 | 1,401 |
| ομ.Π2(1:5) | 0,674 | 1,028 | 1,921 | 1,543 | 1,469 |
| Ομ.Π3(1:10) | 0,674 | 0,967 | 1,171 | 1,569 | 1,536 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 0,674 | 1,123 | 2,107 | 1,693 | 1,671 |

| Zn µg/ml | 0 μήνες | 6 μήνες | 12 μήνες | 18 μήνες | 24 μήνες |
|----------------|---------|---------|----------|----------|----------|
| ομ.Π1 | 13,861 | 17,2564 | 31,4076 | 19,9181 | 30,5577 |
| ομ.Π5(control) | 13,861 | 16,3584 | 21,8461 | 27,923 | 28,2454 |
| ομ.Π2(1:5) | 13,861 | 15,963 | 19,6402 | 24,506 | 31,2883 |
| Ομ.Π3(1:10) | 13,861 | 17,3241 | 29,4285 | 34,9893 | 27,9906 |
| Ομ.Π4(pH<7) | 13,861 | 18,7158 | 30,0142 | 31,4136 | 31,7195 |

ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΕ ΖΩΑ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΠΙ ΠΟΥ ΑΠΕΒΙΩΣΑΝ

| | Cd µg/gr ιστού | Cr µg/gr ιστού | Cu µg/gr ιστού | Pb µg/gr ιστού | Zn µg/gr ιστού |
|-----------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Πνεύμονες | 0,5472 | 1,4239 | 2,9419 | 1,7651 | 33,8903 |
| | 0,7404 | 0,4173 | 3,9530 | 1,8079 | 31,7997 |
| | 0,6660 | 0,4919 | 3,2362 | 2,8479 | 57,1262 |
| | 0,5449 | 0,6471 | 3,9094 | 1,9525 | 50,5257 |
| | 0,7256 | 0,3329 | 5,9566 | 2,4527 | 61,7554 |
| | 0,6055 | 0,1746 | 3,7094 | 2,1547 | 42,3849 |
| | 0,6010 | 0,2828 | 5,4799 | 2,1213 | 60,6682 |
| | 0,8397 | 1,0119 | 6,0715 | 4,4974 | 44,2770 |
| average | 0,6588 | 0,5978 | 4,4072 | 2,4499 | 47,8034 |
| st. dev. | 0,104 | 0,422 | 1,241 | 0,900 | 11,625 |
| Καρδιά | 1,0547 | 2,5866 | 5,7760 | 3,5158 | 36,4139 |
| | 0,9582 | 0,7815 | 3,9077 | 2,6051 | 25,6420 |
| | 1,1422 | 1,0042 | 6,8027 | 4,2112 | 61,0301 |
| | 0,9465 | 0,7260 | 4,4547 | 3,9597 | 32,0739 |
| | 1,3433 | 0,2624 | 4,8098 | 3,4980 | 51,2899 |
| | 1,4841 | 0,1562 | 3,9044 | 2,9371 | 29,3612 |
| | 0,9115 | 0,3665 | 5,2356 | 3,4031 | 47,1204 |
| | 1,5661 | 1,1549 | 4,5290 | 3,6232 | 34,8732 |
| average | 1,1759 | 0,8798 | 4,9275 | 3,4692 | 39,7256 |
| st. dev. | 0,257 | 0,775 | 0,987 | 0,514 | 12,196 |



| | | | | | |
|----------|--------|--------|---------|---------|----------|
| | | | | | |
| Σπλήνας | 1,4897 | 3,2677 | 5,2859 | 1,9222 | 74,5795 |
| | 1,6215 | 0,9159 | 4,5797 | 3,2712 | 52,8623 |
| | 1,0383 | 2,6358 | 7,9872 | 9,5847 | 132,5080 |
| | 1,7997 | 1,1196 | 6,0781 | 3,8388 | 67,1145 |
| | 2,1533 | 1,1533 | 10,1764 | 6,1058 | 99,7286 |
| | 0,9629 | 0,3980 | 4,6434 | 4,3118 | 56,7496 |
| | 1,3652 | 1,3652 | 9,1013 | 14,7895 | 129,8066 |
| | 1,0309 | 1,8744 | 12,1837 | 9,3721 | 87,4414 |
| | | | | | |
| average | 1,4327 | 1,5912 | 7,5045 | 6,6495 | 87,5988 |
| st. dev. | 0,420 | 0,951 | 2,816 | 4,305 | 30,921 |
| | | | | | |
| Ήπαρ | 0,8260 | 0,9453 | 3,9118 | 0,9345 | 57,1987 |
| | 1,0581 | 0,3298 | 3,8636 | 1,2250 | 26,4795 |
| | 1,5198 | 0,5553 | 12,0510 | 2,3629 | 94,2462 |
| | 0,9442 | 0,6239 | 8,3193 | 3,2497 | 60,0546 |
| | 1,3382 | 0,2566 | 19,2420 | 1,9327 | 72,7697 |
| | 1,2610 | 0,3272 | 3,8357 | 2,4666 | 39,7450 |
| | 1,2344 | 0,2820 | 12,8296 | 2,1148 | 77,0760 |
| | 1,4670 | 0,6085 | 6,0855 | 3,5381 | 50,5095 |
| | | | | | |
| average | 1,2061 | 0,4911 | 8,7673 | 2,2280 | 59,7599 |
| st. dev. | 0,246 | 0,237 | 5,559 | 0,896 | 21,576 |
| | | | | | |
| Νεφρός | 0,8916 | 1,3607 | 8,8744 | 2,0263 | 40,9999 |
| | 1,3029 | 0,4151 | 5,0055 | 1,9534 | 29,8865 |
| | 1,4768 | 0,6606 | 16,2471 | 3,2137 | 73,7815 |
| | 1,4591 | 0,7915 | 5,2240 | 2,6912 | 47,4909 |
| | 1,3673 | 0,3651 | 10,0759 | 2,1904 | 64,3400 |
| | 0,9799 | 0,3413 | 4,9888 | 2,1006 | 37,4032 |
| | 1,1272 | 0,3680 | 9,5063 | 1,9933 | 54,6305 |
| | 1,7024 | 0,7390 | 5,1406 | 3,3735 | 41,8153 |
| | | | | | |
| average | 1,2884 | 0,6302 | 8,1328 | 2,4428 | 48,7934 |
| st. dev. | 0,273 | 0,347 | 3,948 | 0,575 | 14,631 |
| | | | | | |
| Ορχεις | 0,4270 | 0,9555 | 1,6953 | 1,5412 | 42,2286 |
| | 0,7474 | 0,4742 | 2,2680 | 1,5237 | 30,4330 |
| | 0,6895 | 0,4905 | 2,4526 | 1,6722 | 33,6343 |
| | 0,8183 | 0,8592 | 3,2733 | 2,2504 | 40,7119 |
| | 0,7685 | 0,3522 | 2,8818 | 5,4435 | 27,6017 |
| | 0,9486 | 0,4096 | 3,1207 | 2,9257 | 28,2816 |
| | 1,2589 | 0,4593 | 3,1949 | 3,9936 | 42,1725 |
| | 1,1053 | 0,5548 | 2,9062 | 2,1136 | 25,9709 |
| | | | | | |
| average | 0,8455 | 0,5694 | 2,7241 | 2,6830 | 33,8793 |
| st. dev. | 0,258 | 0,218 | 0,545 | 1,393 | 6,870 |



| | | | | | |
|------------|--------|--------|--------|---------|----------|
| Εγκέφαλος | 0,3570 | 1,0501 | 1,5751 | 0,6301 | 19,9097 |
| | 0,7026 | 0,4910 | 2,8476 | 2,1603 | 19,8056 |
| | 0,6414 | 0,4296 | 3,3043 | 1,9143 | 21,2358 |
| | 0,8250 | 0,4526 | 3,8113 | 2,2630 | 35,7313 |
| | 0,6780 | 0,2162 | 4,3243 | 1,7839 | 54,6255 |
| | 0,5338 | 0,1374 | 4,1233 | 1,8653 | 44,4924 |
| | 0,4729 | 0,2910 | 3,0920 | 3,0920 | 32,5027 |
| | 0,8493 | 0,7278 | 4,9491 | 1,8650 | 30,1601 |
| | | | | | |
| average | 0,6325 | 0,4745 | 3,5034 | 1,9467 | 32,3079 |
| st. dev. | 0,170 | 0,296 | 1,042 | 0,679 | 12,510 |
| | | | | | |
| Μυς | 0,3396 | 1,0470 | 1,6035 | 0,7074 | 43,9540 |
| | 0,4903 | 0,4249 | 1,4164 | 1,5254 | 14,3386 |
| | 0,4163 | 0,7763 | 1,6877 | 1,8002 | 57,3132 |
| | 0,3804 | 0,5825 | 1,5454 | 2,6153 | 40,7989 |
| | 0,6893 | 0,2220 | 1,4020 | 1,5189 | 30,0035 |
| | 0,3195 | 0,2603 | 1,3015 | 1,8930 | 30,0639 |
| | 0,2948 | 0,2541 | 1,5249 | 1,1182 | 33,6281 |
| | 0,2524 | 0,9255 | 1,6827 | 1,3221 | 26,9471 |
| | | | | | |
| average | 0,3978 | 0,5616 | 1,5205 | 1,5626 | 34,6309 |
| st. dev. | 0,139 | 0,324 | 0,139 | 0,569 | 12,837 |
| | | | | | |
| Οστό | | | | | |
| | 2,0944 | 3,0884 | 3,0174 | 18,9918 | 493,0422 |
| | 1,9661 | 3,2587 | 3,6410 | 20,0255 | 178,1540 |
| | 2,3091 | 4,0640 | 4,9261 | 20,0123 | 318,1958 |
| | 2,1534 | 2,5509 | 2,9816 | 19,2148 | 226,9670 |
| | 1,9714 | 2,5864 | 2,8938 | 21,8846 | 310,6710 |
| | 1,8723 | 2,2902 | 2,6868 | 15,7369 | 230,5271 |
| | 2,1190 | 4,8373 | 4,4949 | 22,4743 | 434,0967 |
| | | | | | |
| average | 2,0694 | 3,2394 | 3,5202 | 19,7629 | 313,0934 |
| st. dev. | 0,145 | 0,918 | 0,873 | 2,202 | 115,108 |
| | | | | | |
| Ουρ. κύστη | 0,8515 | 2,0561 | 1,6615 | 3,3229 | 40,5815 |
| | | | | | |
| | 0,6071 | 0,5637 | 1,3010 | 1,5178 | 39,4406 |
| | 0,5618 | 0,9526 | 2,1983 | 2,9311 | 33,1461 |
| | 0,5330 | 0,4531 | 1,5991 | 2,3987 | 26,4925 |
| | 0,6169 | 0,3191 | 1,4890 | 2,7654 | 23,1015 |
| | 0,7331 | 0,6158 | 1,4663 | 3,5191 | 33,1672 |
| | 0,5509 | 1,1018 | 2,1557 | 3,5928 | 29,3174 |
| | | | | | |
| average | 0,6363 | 0,8660 | 1,6958 | 2,8640 | 32,1781 |
| st. dev. | 0,116 | 0,592 | 0,348 | 0,732 | 6,431 |



ΖΩΑ ΠΟΥ ΑΠΕΒΙΩΣΑΝ - ΟΜΑΔΑ Π2 (1:5)

| | (Ομάδα Π2 1:5) | | | | |
|-----------|----------------|----------|----------|----------|----------|
| | Cd µg/gr | Cr µg/gr | Cu µg/gr | Pb µg/gr | Zn µg/gr |
| | ιστού | ιστού | ιστού | ιστού | ιστού |
| Πνεύμονες | 0,5163 | 0,8930 | 7,6396 | 2,0523 | 52,9532 |
| | 0,7654 | 0,4832 | 3,5781 | 2,1421 | 47,8932 |
| | 0,3383 | 0,6574 | 5,6732 | 1,8654 | 54,1247 |
| average | 0,5400 | 0,6779 | 5,6303 | 2,0199 | 51,6570 |
| st. Dev | 0,2145 | 0,2057 | 2,0311 | 0,1412 | 3,3118 |
| Καρδιά | 0,6669 | 0,9063 | 11,4679 | 2,2059 | 42,6813 |
| | 0,4532 | 0,8463 | 9,5863 | 2,0145 | 40,5763 |
| | 0,6753 | 0,6235 | 8,7436 | 1,9635 | 41,8753 |
| average | 0,5985 | 0,7920 | 9,9326 | 2,0613 | 41,7110 |
| st. Dev | 0,1259 | 0,1490 | 1,3947 | 0,1278 | 1,0621 |
| Σπλήνας | 0,6797 | 1,1555 | 16,9006 | 1,4444 | 75,6500 |
| | 0,5763 | 1,4236 | 12,3211 | 1,0362 | 61,2453 |
| | 0,6174 | 1,2147 | 11,5477 | 1,2147 | 60,8752 |
| average | 0,6245 | 1,2646 | 13,5898 | 1,2318 | 65,9235 |
| st. Dev | 0,0521 | 0,1409 | 2,8932 | 0,2046 | 8,4254 |
| Ήπαρ | 0,8223 | 0,7565 | 11,8614 | 1,5373 | 52,5134 |
| | 0,7531 | 0,5478 | 9,4532 | 2,4210 | 57,1238 |
| | 0,8456 | 0,6131 | 10,5478 | 2,6721 | 51,4784 |
| average | 0,8070 | 0,6391 | 10,6208 | 2,2101 | 53,7052 |
| st. Dev | 0,0481 | 0,1067 | 1,2058 | 0,5960 | 3,0055 |
| Νεφρός | 1,1248 | 0,8478 | 17,7634 | 1,3188 | 47,2076 |
| | 1,4369 | 0,9523 | 10,4321 | 2,9563 | 51,2398 |
| | 1,1025 | 1,2364 | 8,3652 | 2,5632 | 44,7639 |
| average | 1,2214 | 1,0122 | 12,1869 | 2,2794 | 47,7371 |
| st. Dev | 0,1870 | 0,2011 | 4,9387 | 0,8548 | 3,2703 |
| Όρχεις | 0,5377 | 0,4324 | 10,9486 | 0,8635 | 35,5138 |
| | 0,6932 | 0,6893 | 9,2146 | 0,9321 | 21,4123 |
| | 0,7214 | 0,7781 | 7,6894 | 1,0570 | 16,3598 |
| average | 0,6508 | 0,6333 | 9,2842 | 0,9509 | 24,4286 |
| st. Dev | 0,0989 | 0,1795 | 1,6307 | 0,0981 | 9,9269 |

| | | | | | |
|------------|--------|--------|---------|---------|----------|
| Εγκέφαλος | 0,5919 | 0,6867 | 11,8706 | 1,0638 | 41,3856 |
| | 0,6874 | 0,8563 | 9,5689 | 1,2456 | 34,2589 |
| | 0,8963 | 1,1253 | 10,2560 | 1,0456 | 37,5214 |
| | | | | | |
| average | 0,7252 | 0,8894 | 10,5652 | 1,1183 | 37,7220 |
| st. Dev | 0,1557 | 0,2212 | 1,1816 | 0,1106 | 3,5676 |
| | | | | | |
| Μυς | 0,3585 | 0,5132 | 18,3793 | 1,4830 | 39,8138 |
| | 0,4125 | 0,8639 | 11,2563 | 1,3423 | 29,6874 |
| | 0,6871 | 0,9176 | 14,5239 | 1,5129 | 32,5612 |
| | | | | | |
| average | 0,4860 | 0,7649 | 14,7198 | 1,4461 | 34,0208 |
| st. Dev | 0,1762 | 0,2196 | 3,5655 | 0,0911 | 5,2186 |
| | | | | | |
| Οστό | 2,0111 | 2,8721 | 13,9016 | 11,6951 | 286,7148 |
| | 2,6472 | 3,5421 | 14,2587 | 8,6547 | 206,4753 |
| | 1,9632 | 2,1362 | 12,2014 | 9,9635 | 239,6354 |
| | | | | | |
| average | 2,2072 | 2,8501 | 13,4539 | 10,1044 | 244,2752 |
| st. Dev | 0,3818 | 0,7032 | 1,0993 | 1,5251 | 40,3204 |
| | | | | | |
| Ουρ. κύστη | 0,5894 | 0,5072 | 9,3372 | 2,1933 | 33,7766 |
| | 0,6753 | 0,5264 | 8,5425 | 1,9634 | 25,6314 |
| | 0,7125 | 0,5879 | 7,9287 | 2,3145 | 28,4763 |
| | | | | | |
| average | 0,6591 | 0,5405 | 8,6028 | 2,1571 | 29,2948 |
| st. Dev | 0,0631 | 0,0422 | 0,7062 | 0,1783 | 4,1338 |

ΖΩΑ ΠΟΥ ΑΠΕΒΙΩΣΑΝ – ΟΜΑΔΑ Π3 (1:10)

| | ΟΜΑΔΑ Π3(1:10) | | | | |
|-----------|----------------|----------|----------|----------|----------|
| | Cd µg/gr | Cr µg/gr | Cu µg/gr | Pb µg/gr | Zn µg/gr |
| | ιστού | ιστού | ιστού | ιστού | ιστού |
| Πνεύμονες | 0,4700 | 1,1982 | 7,5340 | 1,1282 | 58,4253 |
| | 0,5782 | 0,5114 | 8,0271 | 0,7720 | 43,5009 |
| | 0,6796 | 1,0151 | 10,6718 | 0,8477 | 58,1026 |
| | | | | | |
| average | 0,5759 | 0,9082 | 8,7443 | 0,9160 | 53,3429 |
| st. dev. | 0,105 | 0,356 | 1,687 | 0,188 | 8,525 |
| | | | | | |
| Καρδιά | 0,6805 | 0,7559 | 13,2043 | 1,7314 | 43,1348 |
| | 1,0151 | 0,8374 | 13,3362 | 1,5225 | 46,8331 |
| | 0,7673 | 0,8553 | 17,8505 | 1,2673 | 46,7088 |
| | | | | | |
| average | 0,8210 | 0,8162 | 14,7970 | 1,5071 | 45,5589 |
| st. dev. | 0,174 | 0,053 | 2,645 | 0,232 | 2,100 |
| | | | | | |
| Σπλήνας | 0,5625 | 0,8199 | 9,0396 | 1,5470 | 69,4926 |
| | 0,6159 | 0,7223 | 10,8743 | 0,7524 | 68,6230 |
| | 1,0081 | 0,7855 | 7,3768 | 2,0948 | 59,0207 |
| | | | | | |
| average | 0,7288 | 0,7759 | 9,0969 | 1,4648 | 65,7121 |
| st. dev. | 0,243 | 0,049 | 1,749 | 0,675 | 5,811 |

| | | | | | |
|------------|--------|--------|---------|--------|----------|
| Ήπαρ | 1,0523 | 0,6769 | 12,9869 | 0,9872 | 53,4249 |
| | 0,8251 | 0,7719 | 8,3694 | 1,1996 | 51,2111 |
| | 0,6397 | 0,8793 | 9,2132 | 1,8727 | 55,9585 |
| | | | | | |
| average | 0,8391 | 0,7760 | 10,1898 | 1,3532 | 53,5315 |
| st. dev. | 0,207 | 0,101 | 2,459 | 0,462 | 2,376 |
| | | | | | |
| Νεφρός | 0,9028 | 1,0206 | 15,1150 | 1,3245 | 61,2235 |
| | 1,0343 | 0,9740 | 23,3417 | 1,9479 | 58,4383 |
| | 0,6958 | 0,8214 | 21,0815 | 1,6427 | 48,0767 |
| | | | | | |
| average | 0,8777 | 0,9386 | 19,8461 | 1,6384 | 55,9128 |
| st. dev. | 0,171 | 0,104 | 4,250 | 0,312 | 6,928 |
| | | | | | |
| Όρχεις | 0,3817 | 0,7173 | 6,5526 | 1,7656 | 41,3154 |
| | 0,6308 | 1,3745 | 9,8385 | 1,6204 | 42,7944 |
| | 0,6785 | 0,8279 | 6,7570 | 0,9974 | 41,3927 |
| | | | | | |
| average | 0,5637 | 0,9732 | 7,7160 | 1,4612 | 41,8342 |
| st. dev. | 0,159 | 0,352 | 1,841 | 0,408 | 0,832 |
| | | | | | |
| Εγκέφαλος | 0,8795 | 0,6537 | 10,7207 | 0,9664 | 46,3038 |
| | 0,5158 | 1,5750 | 11,1773 | 1,1807 | 55,0957 |
| | 0,5492 | 0,6662 | 9,4074 | 1,3943 | 50,9992 |
| | | | | | |
| average | 0,6482 | 0,9650 | 10,4351 | 1,1804 | 50,7996 |
| st. dev. | 0,201 | 0,528 | 0,919 | 0,214 | 4,399 |
| | | | | | |
| Μυς | 0,4975 | 0,5800 | 19,7193 | 1,1600 | 40,5985 |
| | 0,3248 | 1,3490 | 15,3299 | 1,2778 | 38,7049 |
| | 0,1951 | 0,3938 | 5,6259 | 0,9845 | 36,1744 |
| | | | | | |
| average | 0,3392 | 0,7743 | 13,5584 | 1,1408 | 38,4926 |
| st. dev. | 0,152 | 0,506 | 7,212 | 0,148 | 2,220 |
| | | | | | |
| Οστό | 1,8195 | 3,0700 | 28,2502 | 4,0578 | 347,6939 |
| | 1,0493 | 3,9991 | 13,9420 | 2,8479 | 429,6199 |
| | 1,3179 | 3,0011 | 18,6863 | 3,6300 | 451,8686 |
| | | | | | |
| average | 1,3956 | 3,3568 | 20,2928 | 3,5119 | 409,7275 |
| st. dev. | 0,391 | 0,557 | 7,288 | 0,614 | 54,862 |
| | | | | | |
| Ουρ. κύστη | 0,3977 | 0,5815 | 9,8665 | 1,1032 | 33,2550 |
| | 0,6221 | 2,9670 | 15,5495 | 2,4780 | 56,3736 |
| | 0,4394 | 0,3253 | 7,2528 | 1,0549 | 32,4040 |
| | | | | | |
| average | 0,4864 | 1,2913 | 10,8896 | 1,5454 | 40,6775 |
| st. dev. | 0,119 | 1,457 | 4,242 | 0,808 | 13,600 |



ΖΩΑ ΠΟΥ ΑΠΕΒΙΩΣΑΝ – ΟΜΑΔΑ Π4 (pH:<7.0)

| | ΟΜΑΔΑ Π4 (pH<7) | | | | |
|-----------|-----------------|----------|----------|----------|----------|
| | Cd μg/gr | Cr μg/gr | Cu μg/gr | Pb μg/gr | Zn μg/gr |
| | ιστού | ιστού | ιστού | ιστού | ιστού |
| Πνεύμονες | 0,4115 | 1,2840 | 3,9506 | 1,7984 | 35,1440 |
| | 0,6478 | 1,0796 | 7,4940 | 0,9351 | 35,5646 |
| | 0,4791 | 1,1747 | 8,1376 | 2,7821 | 42,4111 |
| | 0,7108 | 2,0572 | 9,5050 | 0,9550 | 40,5779 |
| average | 0,5623 | 1,3989 | 7,2718 | 1,6176 | 38,4244 |
| st. dev. | 0,140 | 0,447 | 2,368 | 0,874 | 3,627 |
| Καρδιά | 0,8614 | 1,7422 | 3,9596 | 3,5637 | 27,8539 |
| | 0,9659 | 2,0216 | 12,5786 | 1,5723 | 32,4349 |
| | 0,9298 | 1,0105 | 9,4835 | 3,1811 | 58,9783 |
| | 1,0799 | 2,3763 | 10,9077 | 2,1621 | 44,8773 |
| average | 0,9592 | 1,7876 | 9,2324 | 2,6198 | 41,0361 |
| st. dev. | 0,091 | 0,579 | 3,736 | 0,915 | 13,957 |
| Σπλήνας | 0,8342 | 3,3586 | 6,1495 | 3,7843 | 57,9754 |
| | 1,1237 | 3,1643 | 16,6329 | 1,2170 | 66,5314 |
| | 0,9771 | 1,1542 | 10,6517 | 3,3831 | 71,8507 |
| | 0,6849 | 1,4446 | 8,0498 | 1,2204 | 67,8730 |
| average | 0,9050 | 2,2804 | 10,3710 | 2,4012 | 66,0576 |
| st. dev. | 0,188 | 1,142 | 4,564 | 1,375 | 5,842 |
| Ήπαρ | 0,6468 | 1,3289 | 6,7035 | 1,6352 | 50,4528 |
| | 0,6756 | 1,1330 | 14,9671 | 2,0842 | 42,1877 |
| | 0,9315 | 1,0210 | 6,5035 | 2,3357 | 41,8462 |
| | 1,3884 | 1,8383 | 9,3138 | 1,2558 | 56,4131 |
| average | 0,9106 | 1,3303 | 9,3720 | 1,8277 | 47,7249 |
| st. dev. | 0,343 | 0,362 | 3,944 | 0,479 | 7,027 |
| Νεφρός | 0,5408 | 1,7699 | 5,0803 | 1,8458 | 47,3779 |
| | 1,3742 | 1,0586 | 16,7721 | 1,5947 | 42,9434 |
| | 0,9562 | 1,2039 | 15,7945 | 2,0297 | 39,8539 |
| | 0,8677 | 1,6146 | 12,7604 | 1,7448 | 42,2917 |
| average | 0,9347 | 1,4117 | 12,6018 | 1,8038 | 43,1167 |
| st. dev. | 0,343 | 0,335 | 5,297 | 0,183 | 3,137 |
| Όρχεις | 0,8296 | 1,0140 | 8,2152 | 1,5293 | 25,4417 |
| | 0,7574 | 1,2050 | 9,0193 | 2,0527 | 48,0952 |
| | 0,4128 | 1,3361 | 7,8975 | 1,6398 | 45,7093 |
| average | 0,6666 | 1,1850 | 8,3773 | 1,7406 | 39,7487 |
| st. dev. | 0,223 | 0,162 | 0,578 | 0,276 | 12,448 |

| | | | | | |
|------------|--------|--------|---------|---------|----------|
| Εγκέφαλος | 0,3113 | 1,2609 | 4,2030 | 1,3557 | 43,4620 |
| | 0,6364 | 1,1818 | 7,5758 | 0,7136 | 31,2121 |
| | 1,1083 | 2,0907 | 6,4635 | 2,6599 | 26,8539 |
| | 0,3449 | 1,4028 | 6,5087 | 1,4373 | 46,0849 |
| | | | | | |
| average | 0,6002 | 1,4840 | 6,1877 | 1,5416 | 36,9032 |
| st. dev. | 0,369 | 0,415 | 1,419 | 0,813 | 9,322 |
| | | | | | * |
| Μυς | 0,3765 | 1,0860 | 3,4480 | 1,8824 | 37,5062 |
| | 0,3515 | 1,4394 | 13,1818 | 0,1212 | 28,2424 |
| | 0,4405 | 1,1012 | 14,6821 | 1,6909 | 41,1992 |
| | 0,2536 | 1,4867 | 7,2328 | 1,5567 | 36,3782 |
| | | | | | |
| average | 0,3555 | 1,2783 | 9,6362 | 1,3128 | 35,8315 |
| st. dev. | 0,078 | 0,214 | 5,231 | 0,806 | 5,462 |
| | | | | | |
| Οστό | 1,0774 | 4,8162 | 3,8023 | 16,0676 | 271,3139 |
| | 1,8636 | 4,7457 | 8,9950 | 4,9851 | 473,3871 |
| | 1,6451 | 3,7733 | 16,4512 | 19,5587 | 408,8132 |
| | 1,4580 | 6,4635 | 10,5677 | 13,8142 | 411,1821 |
| | | | | | |
| average | 1,5111 | 4,9497 | 9,9541 | 13,6064 | 391,1741 |
| st. dev. | 0,333 | 1,116 | 5,207 | 6,214 | 85,317 |
| | | | | | |
| Ουρ. κύστη | 0,5225 | 1,4085 | 2,5902 | 2,2472 | 34,6901 |
| | | | | | |
| | 0,6150 | 1,4080 | 7,1549 | 2,1557 | 28,6616 |
| | 0,6012 | 1,5878 | 5,2413 | 1,5724 | 36,1338 |
| | | | | | |
| average | 0,5796 | 1,4681 | 4,9954 | 1,9917 | 33,1618 |
| st. dev. | 0,050 | 0,104 | 2,292 | 0,366 | 3,964 |

ΖΩΑ ΠΟΥ ΑΠΕΒΙΩΣΑΝ ΟΜΑΔΑ Π5-CONTROL

| | Ομάδα Control | | | | |
|-----------|---------------|----------|----------|----------|----------|
| | Cd µg/gr | Cr µg/gr | Cu µg/gr | Pb µg/gr | Zn µg/gr |
| | ιστού | ιστού | ιστού | ιστού | ιστού |
| Πνεύμονες | 0,3707 | 0,9913 | 4,1611 | 0,5081 | 47,0444 |
| | 0,2738 | 0,9061 | 6,9232 | 0,7480 | 36,8968 |
| | 0,3378 | 0,7595 | 9,5476 | 0,4104 | 59,3686 |
| | 0,2657 | 0,8051 | 10,8046 | 0,5617 | 48,9240 |
| | 0,3467 | 0,6396 | 10,0812 | 0,6371 | 51,2893 |
| | | | | | |
| average | 0,3189 | 0,8203 | 8,3035 | 0,5730 | 48,7046 |
| st. dev. | 0,047 | 0,135 | 2,740 | 0,128 | 8,103 |
| | | | | | |
| Καρδιά | 0,3305 | 1,8884 | 14,2489 | 1,1897 | 32,0172 |
| | 0,6363 | 1,4224 | 15,2276 | 0,9510 | 48,1928 |
| | 0,6247 | 1,7537 | 18,0078 | 1,0175 | 43,9673 |
| | 0,6700 | 1,1429 | 17,3399 | 1,2251 | 38,6207 |
| | 0,5011 | 0,7449 | 15,0325 | 1,0344 | 39,2741 |
| | | | | | |
| average | 0,5525 | 1,3904 | 15,9713 | 1,0836 | 40,4144 |
| st. dev. | 0,140 | 0,463 | 1,614 | 0,118 | 6,086 |

| | | | | | |
|-----------|--------|--------|---------|--------|---------|
| Σπλήνας | 0,3760 | 1,2019 | 12,2224 | 1,8334 | 70,5643 |
| | 1,0244 | 3,3115 | 14,4009 | 1,3573 | 66,7320 |
| | 0,8131 | 2,3405 | 9,7093 | 1,4637 | 80,7613 |
| | 0,3720 | 0,7812 | 11,4185 | 0,8872 | 66,8568 |
| | 0,3711 | 0,5129 | 9,8957 | 0,7858 | 52,0790 |
| | | | | | |
| average | 0,5913 | 1,6296 | 11,5294 | 1,2655 | 67,3987 |
| st. dev. | 0,308 | 1,171 | 1,918 | 0,431 | 10,296 |
| | | | | | |
| Ήπαρ | 0,6910 | 1,0381 | 11,0922 | 0,9560 | 52,6735 |
| | 0,8815 | 1,0203 | 8,3060 | 1,1155 | 47,8884 |
| | 0,8990 | 0,8990 | 7,7732 | 1,3075 | 59,2531 |
| | 0,5294 | 0,6082 | 14,4177 | 1,3825 | 49,6959 |
| | 0,4984 | 0,5514 | 9,8600 | 1,3580 | 42,2269 |
| | | | | | |
| average | 0,6999 | 0,8234 | 10,2898 | 1,2239 | 50,3476 |
| st. dev. | 0,189 | 0,230 | 2,652 | 0,183 | 6,268 |
| | | | | | |
| Νεφρός | 0,3195 | 1,1660 | 8,2050 | 1,4153 | 39,7870 |
| | 0,7562 | 1,5622 | 15,0574 | 0,8907 | 44,8842 |
| | 1,0338 | 1,1061 | 32,1940 | 1,7083 | 52,8286 |
| | 0,8966 | 0,8097 | 22,0170 | 1,7438 | 46,4773 |
| | 0,6228 | 0,7155 | 11,2005 | 1,4213 | 53,4782 |
| | | | | | |
| average | 0,7258 | 1,0719 | 17,7348 | 1,4359 | 47,4911 |
| st. dev. | 0,274 | 0,334 | 9,593 | 0,342 | 5,734 |
| | | | | | |
| Όρχεις | 0,3913 | 0,8989 | 6,2394 | 1,0504 | 30,4146 |
| | 0,4272 | 0,8796 | 8,5660 | 1,6257 | 46,9465 |
| | 0,4806 | 0,9031 | 12,7568 | 0,8806 | 33,9580 |
| | 0,3992 | 0,7501 | 6,5739 | 1,4517 | 45,0520 |
| | 0,6287 | 0,8969 | 11,7504 | 1,7190 | 44,1256 |
| | | | | | |
| average | 0,4654 | 0,8657 | 9,1773 | 1,3455 | 40,0993 |
| st. dev. | 0,098 | 0,065 | 2,967 | 0,365 | 7,402 |
| | | | | | |
| Εγκέφαλος | 0,4771 | 1,0374 | 7,4478 | 1,0862 | 47,4013 |
| | 0,6061 | 0,9975 | 15,0465 | 0,8691 | 45,9172 |
| | 0,5361 | 1,5206 | 5,2141 | 0,7540 | 43,3854 |
| | 0,7700 | 0,6326 | 11,8880 | 1,3010 | 39,1502 |
| | 0,4959 | 0,5595 | 9,3052 | 1,1710 | 47,5076 |
| | | | | | |
| average | 0,5770 | 0,9495 | 9,7803 | 1,0363 | 44,6723 |
| st. dev. | 0,119 | 0,384 | 3,831 | 0,223 | 3,507 |
| | | | | | |
| Μυς | 0,2420 | 1,1340 | 4,0775 | 0,7839 | 46,3303 |
| | 0,3710 | 0,8796 | 41,4058 | 1,2847 | 78,0306 |
| | 0,4409 | 0,8541 | 20,8222 | 1,0592 | 35,9931 |
| | 0,1347 | 0,5256 | 16,7748 | 0,8297 | 37,6202 |
| | 0,5519 | 0,6883 | 23,7662 | 0,4104 | 42,3377 |
| | | | | | |
| average | 0,3481 | 0,8163 | 21,3693 | 0,8736 | 48,0624 |
| st. dev. | 0,164 | 0,228 | 13,487 | 0,327 | 17,238 |

| | | | | | |
|-----------|--------|--------|---------|--------|----------|
| Οστό | 1,0523 | 3,5912 | 42,3826 | 4,5097 | 211,2051 |
| | 0,9052 | 4,2549 | 14,0925 | 3,3735 | 361,7780 |
| | 1,1080 | 4,7541 | 27,0333 | 2,0037 | 462,6194 |
| | 0,9092 | 2,7677 | 19,7695 | 2,6236 | 250,0452 |
| | 0,7771 | 3,3740 | 17,6943 | 2,7540 | 447,8329 |
| | | | | | |
| average | 0,9503 | 3,7484 | 24,1945 | 3,0529 | 346,6961 |
| st. dev. | 0,131 | 0,774 | 11,211 | 0,949 | 113,571 |
| | | | | | |
| Ουρ.κύστη | 0,3397 | 2,1211 | 8,6994 | 1,1864 | 45,4647 |
| | 0,4995 | 1,6805 | 6,4529 | 1,1585 | 37,9731 |
| | 0,3631 | 0,8203 | 11,0428 | 1,2051 | 32,0555 |
| | 0,3695 | 0,7723 | 17,9571 | 1,2317 | 38,8492 |
| | 0,3038 | 1,0650 | 11,0268 | 1,2703 | 48,9241 |
| | | | | | |
| average | 0,3751 | 1,2918 | 11,0358 | 1,2104 | 40,6533 |
| st. dev. | 0,074 | 0,588 | 4,312 | 0,043 | 6,632 |

Πίνακες στατιστικών αποτελεσμάτων μεταξύ των ομάδων για τους 24 μήνες έκθεσης.

Ηπαρ Pb

| ομάδες | Π1 | Π5 |
|---|-------------|-------------|
| Μέσος | 2,7713 | 1,414466667 |
| Διακύμανση | 0,06608851 | 0,090033623 |
| Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 |
| Διάμεση διακύμανση | 0,078061067 | |
| Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | 0 | 4 |
| t | 5,947779959 | |
| P(T<=t) μονόπλευρη | 0,002004425 | |
| t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846486 | |
| P(T<=t) δίπλευρη | 0,004008851 | |
| t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776450856 | |

Ηπαρ Cd

| ομάδες | Π1 | Π5 | ομάδες | Π4 | Π5 |
|---|-------------|-------------|---|-------------|-----------|
| Μέσος | 0,5197 | 0,314766667 | Μέσος | 0,499104002 | 0,3147667 |
| Διακύμανση | 0,00246949 | 0,005665463 | Διακύμανση | 0,002156726 | 0,0056655 |
| Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 | Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 |
| Διάμεση διακύμανση | 0,004067477 | | Διάμεση διακύμανση | 0,003911094 | |
| Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | 0 | 4 | Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | 0 | 4 |
| t | 3,935461775 | | t | 3,610021442 | |
| P(T<=t) μονόπλευρη | 0,008512304 | | P(T<=t) μονόπλευρη | 0,011278089 | |
| t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846486 | | t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846486 | |
| P(T<=t) δίπλευρη | 0,017024608 | | P(T<=t) δίπλευρη | 0,022556177 | |
| t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776450856 | | t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776450856 | |

Οστό Cd

| ομάδες | Π1 | Π5 | ομάδες | Π4 | Π5 |
|---|-------------|-------------|---|-------------|-----------|
| Μέσος | 3,435733333 | 1,692133333 | Μέσος | 2,788124767 | 1,6921333 |
| Διακύμανση | 0,166118643 | 0,046300163 | Διακύμανση | 0,103632137 | 0,0463002 |
| Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 | Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 |
| Διάμεση διακύμανση | 0,106209403 | | Διάμεση διακύμανση | 0,07496615 | |
| Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | 0 | | Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | 0 | |
| t | 6,552559985 | | t | 4,902529158 | |
| P(T<=t) μονόπλευρη | 0,001402436 | | P(T<=t) μονόπλευρη | 0,004014695 | |
| t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846486 | | t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846486 | |
| P(T<=t) δίπλευρη | 0,002804872 | | P(T<=t) δίπλευρη | 0,008029389 | |
| t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776450856 | | t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776450856 | |

Οστό Pb

| ομάδες | Π1 | Π5 |
|---|-------------|------------|
| Μέσος | 28,8156 | 16,8959 |
| Διακύμανση | 24,69827647 | 0,91646947 |
| Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 |
| Διάμεση διακύμανση | 12,80737297 | |
| Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | 0 | |
| t | 4,079255672 | |
| P(T<=t) μονόπλευρη | 0,007553826 | |
| t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846486 | |
| P(T<=t) δίπλευρη | 0,015107652 | |
| t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776450856 | |

Εγκεφ. Cd

| ομάδες | Π1 | Π5 | ομάδες | Π4 | Π5 |
|---|-------------|------------|---|-------------|-----------|
| Μέσος | 0,488166667 | 0,2911 | Μέσος | 0,2911 | 0,4187073 |
| Διακύμανση | 0,003650663 | 0,00615261 | Διακύμανση | 0,00615261 | 0,0023603 |
| Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 | Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 |
| Διάμεση διακύμανση | 0,004901637 | | Διάμεση διακύμανση | 0,004256439 | |
| Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | 0 | | Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | 0 | |
| t | 3,447372732 | | t | -2,39551046 | |
| P(T<=t) μονόπλευρη | 0,013058539 | | P(T<=t) μονόπλευρη | 0,037359697 | |
| t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846486 | | t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846486 | |
| P(T<=t) δίπλευρη | 0,026117079 | | P(T<=t) δίπλευρη | 0,074719395 | |
| t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776450856 | | t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776450856 | |

Εγκεφ. Pb

| Ομάδες | Π1 | Π5 | Π4 | Π5 | |
|---|------------|----------|---|----------|----------|
| Μέσος | 2,5844 | 1,586967 | Μέσος | 1,749166 | 1,586967 |
| Διακύμανση | 0,37707607 | 0,535565 | Διακύμανση | 0,40042 | 0,535565 |
| Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 | Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 |
| Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | 0 | | Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | 0 | |
| t | 1,80839989 | | t | 0,290386 | |
| P(T<=t) μονόπλευρη | 0,07240823 | | P(T<=t) μονόπλευρη | 0,392977 | |
| t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,13184649 | | t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846 | |
| P(T<=t) δίπλευρη | 0,14481647 | | P(T<=t) δίπλευρη | 0,785954 | |
| t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,77645086 | | t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776451 | |



| Πνευμον. Cd | ομάδες | Π1 | Π5 | ομάδες | Π4 | Π5 |
|-------------|---|-------------|-------------|---|-----------|----------|
| | Μέσος | 0,512566667 | 0,316266667 | Μέσος | 0,3162667 | 0,663791 |
| | Διακύμανση | 0,002855723 | 0,000278363 | Διακύμανση | 0,0002784 | 0,008062 |
| | Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 | Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 |
| | Διάμεση διακύμανση | 0,001567043 | | Διάμεση διακύμανση | 0,0041702 | |
| | Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | 0 | | Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | 0 | |
| | t | 6,073309674 | | t | -6,591009 | |
| | P(T<=t) μονόπλευρη | 0,001856673 | | P(T<=t) μονόπλευρη | 0,0013723 | |
| | t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846486 | | t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,1318465 | |
| | P(T<=t) δίπλευρη | 0,003713346 | | P(T<=t) δίπλευρη | 0,0027445 | |
| | t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776450856 | | t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,7764509 | |

| πνευμ. Pb | ομάδες | Π1 | Π5 | ομάδες | Π5 | Π4 |
|-----------|---|-------------|-------------|---|-------------|-----------|
| | Μέσος | 2,6296 | 1,575633333 | Μέσος | 1,575633333 | 3,0475682 |
| | Διακύμανση | 0,30164899 | 0,044782403 | Διακύμανση | 0,044782403 | 0,0631896 |
| | Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 | Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 |
| | Διάμεση διακύμανση | 0,173215697 | | Διάμεση διακύμανση | 0,053986001 | |
| | Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | 0 | | Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | 0 | |
| | t | 3,101550687 | | t | -7,75878356 | |
| | P(T<=t) μονόπλευρη | 0,018083349 | | P(T<=t) μονόπλευρη | 0,000743565 | |
| | t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846486 | | t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846486 | |
| | P(T<=t) δίπλευρη | 0,036166697 | | P(T<=t) δίπλευρη | 0,00148713 | |
| | t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776450856 | | t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776450856 | |

| Ορχεις Cd | ομάδες | Π1 | Π5 | ομάδες | Π5 | Π4 |
|-----------|---|-------------|-------------|---|-------------|-----------|
| | Μέσος | 0,376633333 | 0,233933333 | Μέσος | 0,233933333 | 0,3481832 |
| | Διακύμανση | 0,000946493 | 0,004387613 | Διακύμανση | 0,004387613 | 0,005595 |
| | Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 | Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 |
| | Διάμεση διακύμανση | 0,002667053 | | Διάμεση διακύμανση | 0,004991316 | |
| | Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | 0 | | Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | 0 | |
| | t | 3,384182321 | | t | -1,98058725 | |
| | P(T<=t) μονόπλευρη | 0,013839138 | | P(T<=t) μονόπλευρη | 0,059360898 | |
| | t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846486 | | t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846486 | |
| | P(T<=t) δίπλευρη | 0,027678276 | | P(T<=t) δίπλευρη | 0,118721796 | |
| | t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776450856 | | t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776450856 | |

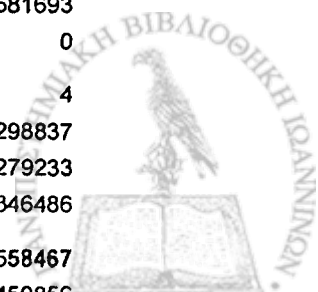


| Ορχεις Pb | ομάδες | Π1 | Π5 | ομάδες | Π4 | Π5 |
|---|--------|-------------|-------------|---|-------------|-----------|
| Μέσος | | 2,120566667 | 1,170433333 | Μέσος | 1,836646489 | 1,1704333 |
| Διακύμανση | | 0,332168763 | 0,026919023 | Διακύμανση | 0,029314078 | 0,026919 |
| Μέγεθος δείγματος | | 3 | 3 | Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 |
| Διάμεση διακύμανση | | 0,179543893 | | Διάμεση διακύμανση | 0,028116551 | |
| Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | | 0 | | Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | 0 | |
| t | | 2,746280321 | | t | 4,866063978 | |
| P(T<=t) μονόπλευρη | | 0,025785621 | | P(T<=t) μονόπλευρη | 0,004121544 | |
| t κρίσιμο, μονόπλευρο | | 2,131846486 | | t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846486 | |
| P(T<=t) δίπλευρη | | 0,051571241 | | P(T<=t) δίπλευρη | 0,008243088 | |
| t κρίσιμο, δίπλευρο | | 2,776450856 | | t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776450856 | |

| Σπλήνας Cd | ομάδες | Π1 | Π5 |
|---|--------|-------------|-------------|
| Μέσος | | 0,830133333 | 0,426633333 |
| Διακύμανση | | 0,020832803 | 0,010131063 |
| Μέγεθος δείγματος | | 3 | 3 |
| Διάμεση διακύμανση | | 0,015481933 | |
| Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | | 0 | |
| t | | 3,971701236 | |
| P(T<=t) μονόπλευρη | | 0,008257594 | |
| t κρίσιμο, μονόπλευρο | | 2,131846486 | |
| P(T<=t) δίπλευρη | | 0,016515189 | |
| t κρίσιμο, δίπλευρο | | 2,776450856 | |

| Σπλήνας Pb | ομάδες | Π1 | Π5 |
|---|--------|-------------|-------------|
| Μέσος | | 3,823933333 | 2,270566667 |
| Διακύμανση | | 1,390630603 | 0,287275213 |
| Μέγεθος δείγματος | | 3 | 3 |
| Διάμεση διακύμανση | | 0,838952908 | |
| Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | | 0 | |
| t | | 2,077068498 | |
| P(T<=t) μονόπλευρη | | 0,053187638 | |
| t κρίσιμο, μονόπλευρο | | 2,131846486 | |
| P(T<=t) δίπλευρη | | 0,106375276 | |
| t κρίσιμο, δίπλευρο | | 2,776450856 | |

| Νεφρός Cd | ομάδες | Π1 | Π5 | ομάδες | Π4 | Π5 |
|---|--------|-------------|-------------|---|-------------|-----------|
| Μέσος | | 0,6193 | 0,346233333 | Μέσος | 0,581484391 | 0,3462333 |
| Διακύμανση | | 0,00541279 | 0,004345363 | Διακύμανση | 0,002818022 | 0,0043454 |
| Μέγεθος δείγματος | | 3 | 3 | Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 |
| Διάμεση διακύμανση | | 0,004879077 | | Διάμεση διακύμανση | 0,003581693 | |
| Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | | 0 | | Υποτιθέμενη διαφορά μέσων βαθμοί ελευθερίας | 0 | |
| t | | 4,787904697 | | t | 4,814298837 | |
| P(T<=t) μονόπλευρη | | 0,004362459 | | P(T<=t) μονόπλευρη | 0,004279233 | |
| t κρίσιμο, μονόπλευρο | | 2,131846486 | | t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846486 | |
| P(T<=t) δίπλευρη | | 0,008724919 | | P(T<=t) δίπλευρη | 0,008558467 | |
| t κρίσιμο, δίπλευρο | | 2,776450856 | | t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776450856 | |



| νεφρός Pb | ομάδες | Π1 | Π5 |
|--|--------|-------------|-------------|
| Μέσος | | 3,7992 | 1,643333333 |
| Διακύμανση | | 0,73629199 | 0,144614253 |
| Μέγεθος δείγματος | | 3 | 3 |
| Διάμεση διακύμανση | | 0,440453122 | |
| Υποτιθέμενη διαφορά μέσω βαθμοί ελευθερίας | | 0 | |
| t | | 3,978484597 | |
| P(T<=t) μονόπλευρη | | 0,00821094 | |
| t κρίσιμο, μονόπλευρο | | 2,131846486 | |
| P(T<=t) δίπλευρη | | 0,01642188 | |
| t κρίσιμο, δίπλευρο | | 2,776450856 | |

| ουρ. Κύστη Cd | ομάδες | Π1 | Π5 | ομάδες | Π4 | Π5 |
|--|--------|-------------|------------|--|-------------|-----------|
| Μέσος | | 0,4128 | 0,2223 | Μέσος | 0,393691177 | 0,2223 |
| Διακύμανση | | 0,00122269 | 0,00079716 | Διακύμανση | 0,007084935 | 0,0007972 |
| Μέγεθος δείγματος | | 3 | 3 | Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 |
| Διάμεση διακύμανση | | 0,001009925 | | Διάμεση διακύμανση | 0,003941048 | |
| Υποτιθέμενη διαφορά μέσω βαθμοί ελευθερίας | | 0 | | Υποτιθέμενη διαφορά μέσω βαθμοί ελευθερίας | 0 | |
| t | | 7,341690091 | | t | 3,343707296 | |
| P(T<=t) μονόπλευρη | | 0,000916312 | | P(T<=t) μονόπλευρη | 0,014368236 | |
| t κρίσιμο, μονόπλευρο | | 2,131846486 | | t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846486 | |
| P(T<=t) δίπλευρη | | 0,001832625 | | P(T<=t) δίπλευρη | 0,028736473 | |
| t κρίσιμο, δίπλευρο | | 2,776450856 | | t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776450856 | |

| Καρδιά Cd | ομάδες | Π1 | Π5 | ομάδες | Π4 | Π5 |
|--|--------|-------------|-------------|--|-------------|-----------|
| Μέσος | | 0,7835 | 0,328633333 | Μέσος | 0,66035633 | 0,3286333 |
| Διακύμανση | | 0,010048 | 0,000572903 | Διακύμανση | 0,031670306 | 0,0005729 |
| Μέγεθος δείγματος | | 3 | 3 | Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 |
| Διάμεση διακύμανση | | 0,005310452 | | Διάμεση διακύμανση | 0,016121605 | |
| Υποτιθέμενη διαφορά μέσω βαθμοί ελευθερίας | | 0 | | Υποτιθέμενη διαφορά μέσω βαθμοί ελευθερίας | 0 | |
| t | | 7,644762743 | | t | 3,199757585 | |
| P(T<=t) μονόπλευρη | | 0,000786466 | | P(T<=t) μονόπλευρη | 0,016454207 | |
| t κρίσιμο, μονόπλευρο | | 2,131846486 | | t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846486 | |
| P(T<=t) δίπλευρη | | 0,001572931 | | P(T<=t) δίπλευρη | 0,032908415 | |
| t κρίσιμο, δίπλευρο | | 2,776450856 | | t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776450856 | |

| Καρδιά Pb | ομάδες | Π1 | Π5 | ομάδες | Π4 | Π5 |
|--|--------|-------------|-------------|--|-------------|-----------|
| Μέσος | | 5,058133333 | 2,163233333 | Μέσος | 3,09937487 | 2,1632333 |
| Διακύμανση | | 0,120782653 | 0,262352403 | Διακύμανση | 0,43320009 | 0,2623524 |
| Μέγεθος δείγματος | | 3 | 3 | Μέγεθος δείγματος | 3 | 3 |
| Διάμεση διακύμανση | | 0,191567528 | | Διάμεση διακύμανση | 0,347776247 | |
| Υποτιθέμενη διαφορά μέσω βαθμοί ελευθερίας | | 0 | | Υποτιθέμενη διαφορά μέσω βαθμοί ελευθερίας | 0 | |
| t | | 8,100619775 | | t | 1,944183205 | |
| P(T<=t) μονόπλευρη | | 0,000631198 | | P(T<=t) μονόπλευρη | 0,061890556 | |
| t κρίσιμο, μονόπλευρο | | 2,131846486 | | t κρίσιμο, μονόπλευρο | 2,131846486 | |
| P(T<=t) δίπλευρη | | 0,001262396 | | P(T<=t) δίπλευρη | 0,123781111 | |
| t κρίσιμο, δίπλευρο | | 2,776450856 | | t κρίσιμο, δίπλευρο | 2,776450856 | |