



ИНСТИТУТ ЗА ЈАВНО ЗДРАВЉЕ СРБИЈЕ  
„ДР МИЛАН ЈОВАНОВИЋ БАТУТ“

90  
ГОДИНА  
1924-2014

# Токсиколошка лабораторија новог доба

Зорица Благојевић<sup>1</sup>, спец.токс.хем.

Вера Лукић<sup>2</sup>, спец.токс.хем.

Александра Репић<sup>3</sup>, спец.токс.хем.

<sup>1</sup>Институт за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут“

<sup>2</sup>Институт за судску медицину „Милован Миловановић“

<sup>3</sup>Институт за медицину рада и радиолошку заштиту „Др Драгомир Карајовић“

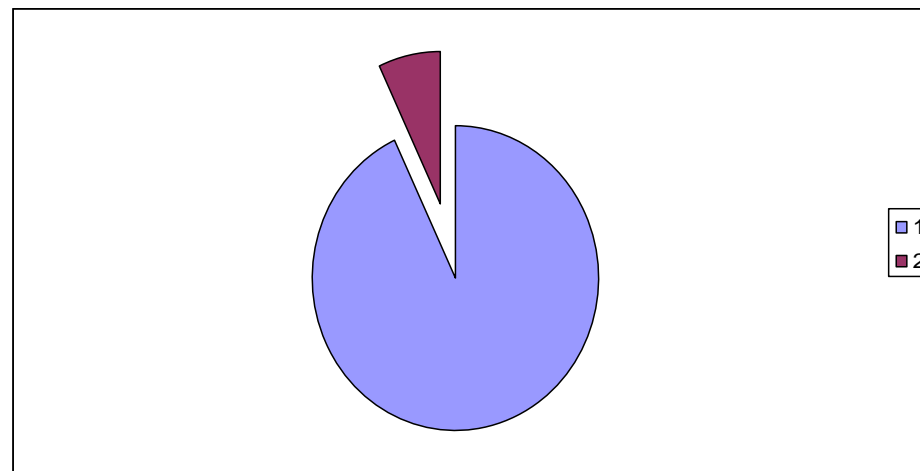
---

„Батутови дани“, 23–24. октобар 2014.

## Токсикологија модерног доба

- Дневно се у свету синтетише велики број нових хемијских једињења чије нам потенцијално токсично дејство није познато...
- Много хемикалија - мало података
- ЕРА 2010. од 2.800 хемикалија - високог производног капацитета

- **7% - подаци о утицају на здравље и животну средину**



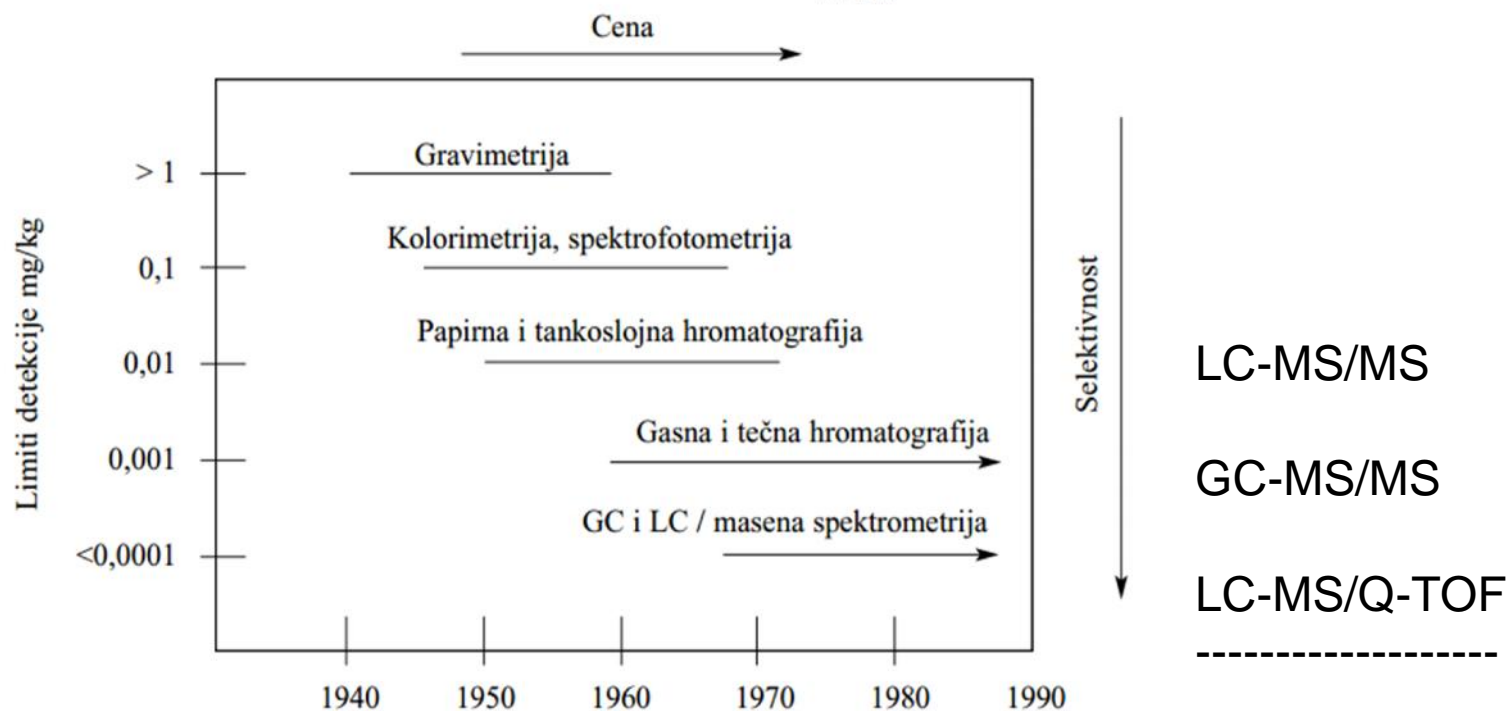
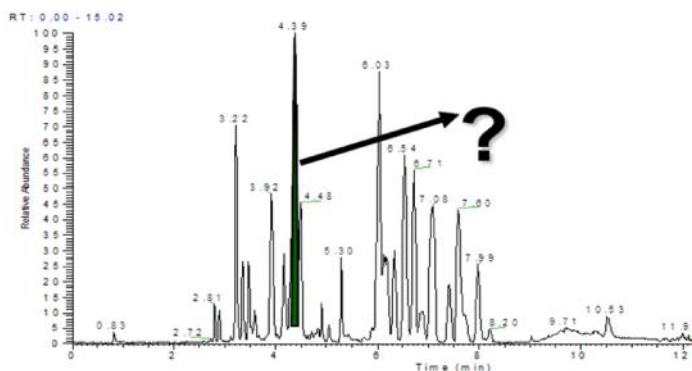
**Последице?**...скоро 17% деце испод 18 година старости - сметње у расту и развоју, 5-10% има тешкоће у учењу, 3-6% деце пати од хиперактивног поремећаја /ADHD/...

## Токсикологија



- **Дескриптивна токсикологија**  
*одређивање токсичности супстанце /однос доза-ефекат/*
- **Механистичка токсикологија**  
*ћелијски, биохемијски и молекуларни механизми токсичног дејства*
- **Регулаторна токсикологија**  
*максимално дозвољене концентрације штетних агенаса у води, ваздуху, храни, предметима опште употребе, радној средини, крви, урину*
- **Аналитичка токсикологија**  
*квантитативно и квалитативно одређивање токсичних супстанци*

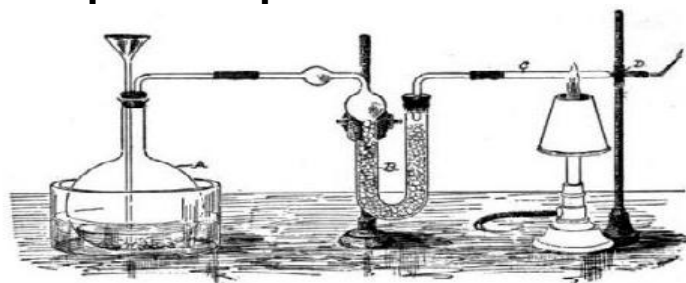
## Аналитичка токсикологија





## Аналитичка токсикологија

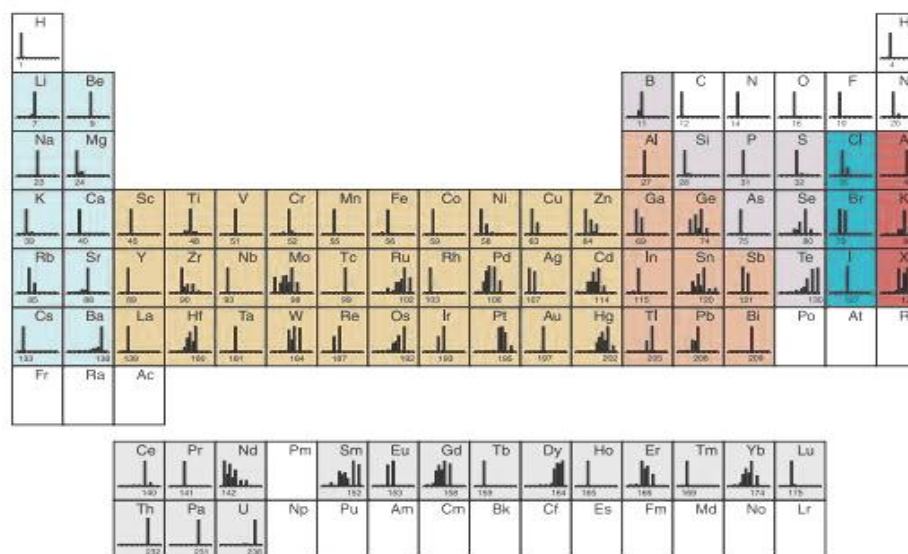
- Маршова проба или ICP ?



Апаратура за одређивање As из 1836. године

ICP - Индукована куплована плазма

- FAAS
- GF-AAS
- HG-AAS
- CV-AAS
- ICP
- ICP-MS



## Гране токсикологије

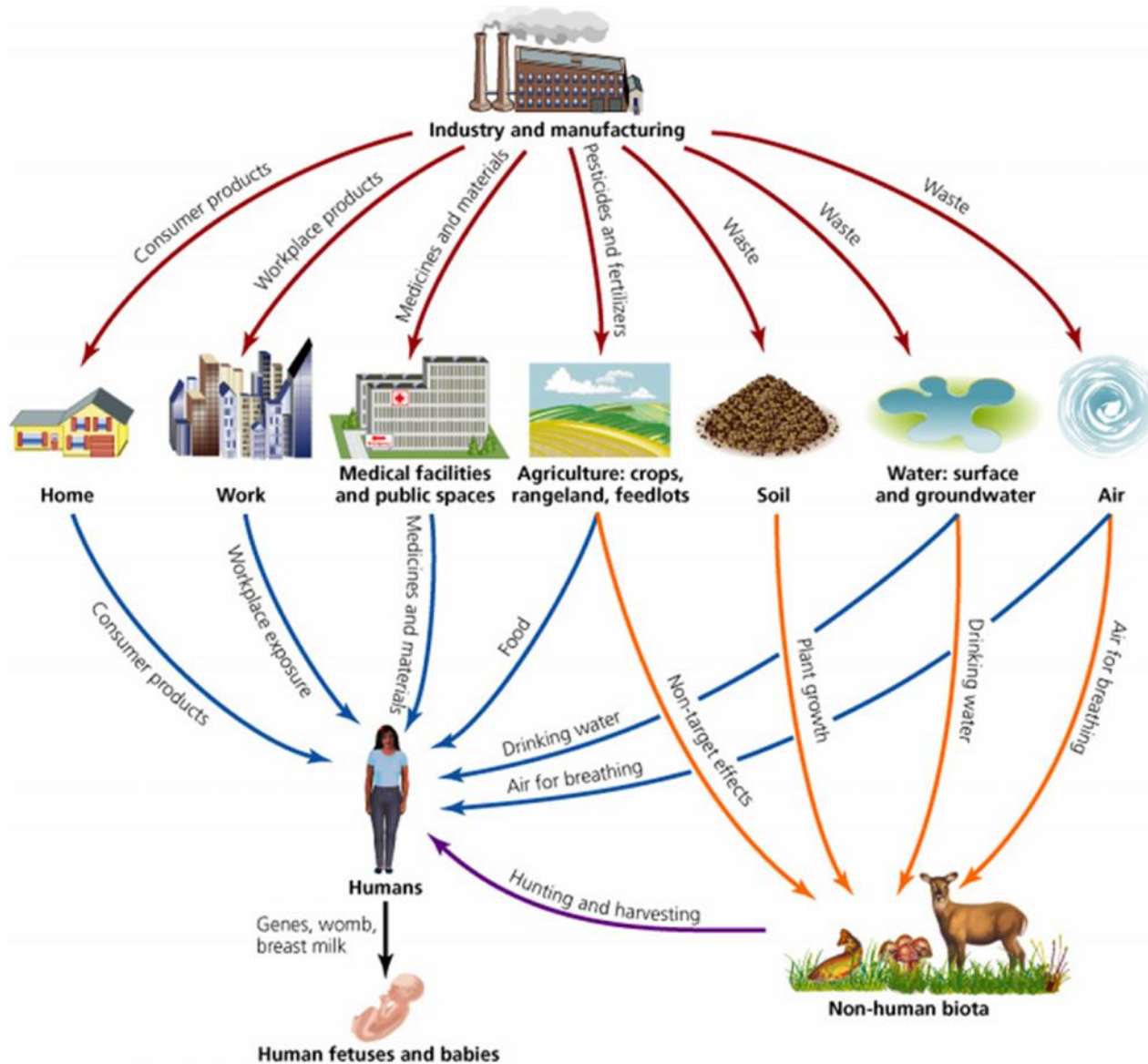
- Судска токсикологија
- Клиничка токсикологија
- Професионална токсикологија
- Екотоксикологија

- Материјал за анализу:

- **Биолошки:** крв, урин, течност стакластог тела, жуч, желудачни садржај, унутрашњи органи, зној, пљувачка, коса, нокти, цереброспинална течност, синовијална течност, меконијум

- **Екотоксиколошки:** вода, храна, ваздух, земљиште, производи и предмети који долазе у непосредан контакт са животним намирницама/водом кожом/слузокожом

## Екотоксикологија



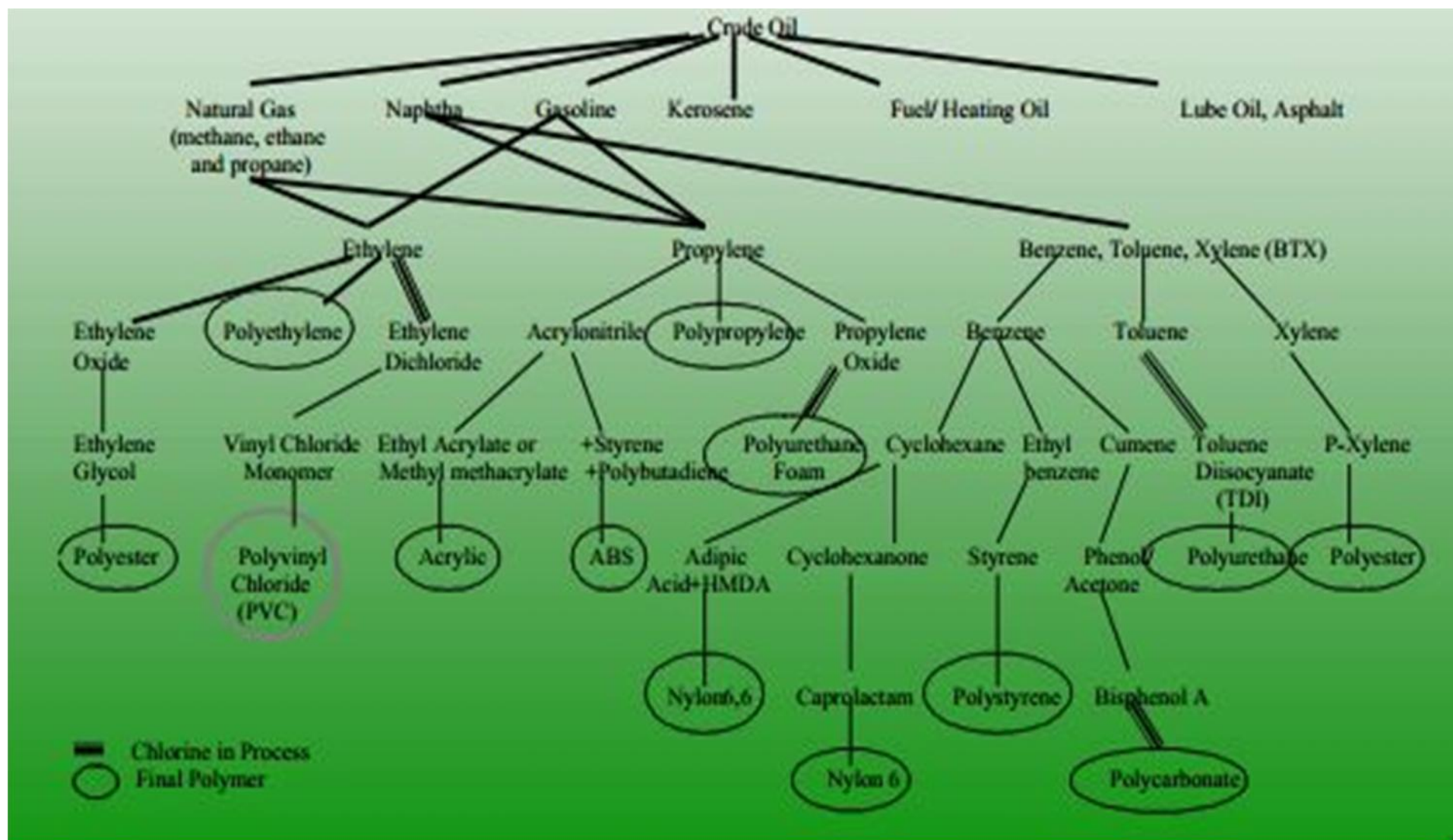
„Батутови дани“, 23-24. октобар 2014.

## Екозагађивачи новог доба

- Највећа забринутост од токсичних хемикалија из **повећаног ризика од мутагених, карциногених, тератогених штетних ефеката**/ по имуни, нервни и ендокрини систем
- **Загађивачи:**
  - **Перзистентни органски загађивачи** → ОНI, РСВ, РВВ/НВВ, PCDD, PCDF, ПАИ
  - **Нафтна индустрија** → нафтне мрље, деривати нафте,...
  - **Индустрија пестицида** → преко 800 активних компоненти
  - **Метална индустрије** → кадмијум, олово, жива, арсен, антимон, хром,...
  - **Индустрија полимерних маса** → мономери, пластификатори, стабилизатори,...
  - **Фармацеутска индустрија** → лекови, хормони (естрогени, андрогени,..)
  - ... друге гране хемијске индустрије, електроиндустрија, графичка индустрија,...
- **Како пратити утицај токсичних хемикалија?**
  - Процена ризика – доза/ фреквенција и дужина експозиције/ годиште и здравствено стање/ путеви излагања/ генетика / синергијски ефекат
  - Законска регулатива: MDK
  - **Аналитичке технике:** GC-MS(/MS); LC-MS(/MS); ICP(/MS)

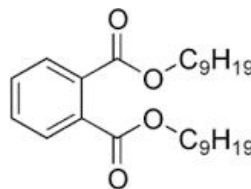


## Производња полимерних једињења



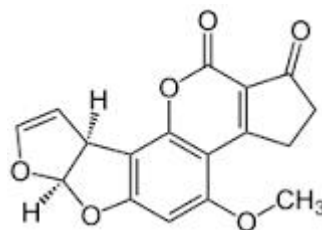
## Фталати

- Глобална производња процењена на 5 милијарди kg (WHO, 2009.)
- Естри 1,2- бензен дикарбоксилне киселине
- Пластификатори
- Дечије играчке, амбалажа, козметички производи, полимерни подови, зидне тапете, лепкови, боје...
- Изложеност: преко хране, ваздуха, воде, козметике...
- DEHP – 50% светске производње
- **Репродуктивна и развојна токсичност /хормонски дисраптери**
- Повећање алергијских и респираторних болести
- DEHP, BBP, DBP: садржај ограничен на 0,1% у свим играчкама и предметима за негу деце /DINP, DIDP, DNOP/
- DEHP, BBP, DBP → амбалажа
- DEHP → вода
- **Аналитичке технике:**
- HPLC/DAD, HPLC-MS (/MS)
- **GC - MS**



## Микотоксини

- Токсични секундарни метаболити плесни
- RASFF – најзаступљенији хазард
- Токсично дејство
- Афлатоксини - **хепатотоксично**
- Охратоксини - **нефротоксично**
- Трихотецени (токсин Т-2, деоксиниваленол) – **имунотоксично**
- Зеараленон – **естрогено**
- Фумонизини – **гастротоксично**



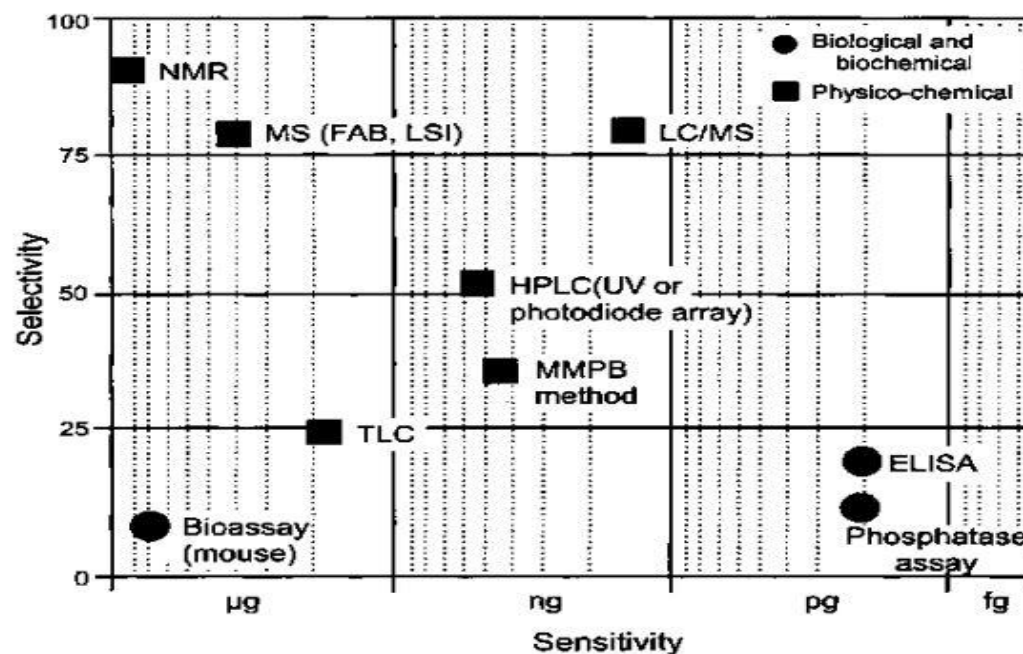
- Афлатоксини – IRAC od 2012. **I група карциногена**
- Афлатоксин М1– IRAC od 1993. **2Б група карциногена**
- Охратоксин А – IRAC od 1993. **2Б група карциногена**
- Фумонизин Б1– IRAC od 2002. **2Б група карциноген**

- **Аналитичке технике:**
- Скрининг тест: Elisa
- TLC
- **HPLC/FLD ; LC-MS (/MS)**



## Цијанотоксини

- Продукују цијанобактерије
- Различити по хемијској структури и токсичном дејству



- Аналитичке технике:
- NMR, TLC, HPLC
- Скрининг тест: Elisa
- LC-MS (/MS)



## Олово и кадмијум

- Експозиција: радна и животна средина
- На основу учесталости појављивања, токсичности и потенцијалу изложености ATSDR сврстава олово на II; кадмијум на VII месту најважнијих отрова
- IARC од 1993. кадмијум и кадмијумова једињења **I група карциногена**  
од 2006. неорганска оловна једињења **2A група карциногена**  
од 1987. метално олово **2B група карциногена**
- Кумулативно дејство  
Биолошки полуживот олова 10-20 год; кадмијума 10-30 год
- Забране и ограничења употребе
- Садржај Cd у металним деловима накита <0,01%
- Садржај Pb у металним деловима накита <0,05%
- Строга контрола садржаја Pb и Cd
- **Аналитичке технике:**
  - Скрининг: XRF
  - AAS, GF-AAS, **ICP(/MS)**



Садржај Cd 47%

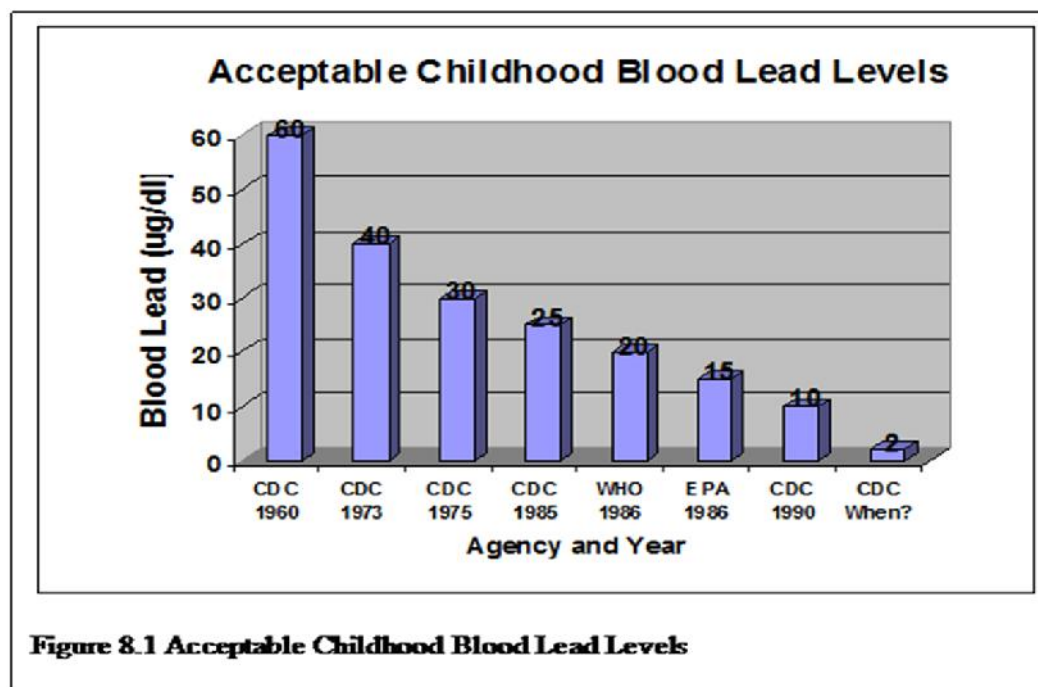


Садржај Pb 30%

## Олово

- У биолошком материјалу: крв и урин
- Најугроженија деца до 5 година старости
- Неуротоксично дејство
- **Смањење IQ** за 2 – 4 поена при порасту олова у крви за 1  $\mu\text{g}/\text{dL}$  код вредности виших од 5  $\mu\text{g}/\text{dL}$

- Аналитичке технике:
- GF-AAS, ICP(/MS)



## Хром и кобалт

- У биолошком материјалу: крв и урин
- IRAC од 2012. хром(VI) једињења **I група карциногена**
- IRAC од 1991. кобалт и једињења кобалта **2Б група карциногена**

- Хром и кобалт: **састојци металних ендопротеза**
- Метал-на-метал ендопротезе могу бити интерни извори метала
- **Металозе**

*Последице:* изумирање кости и ткива око протезе, кардиомиопатија, оштећење вида и слуха, когнитивни поремећаји...

- **Аналитичке технике:**
- GF-AAS, ICP(/MS)

Симптоми металозе специфични за ниво кобалта у серуму	
Кобалт ( $>\mu\text{g/L}$ )	Могући симптоми
1 – 5	проблеми са срцем, проблеми са меморијом
$> 7$	болови у куку, некроза ткива, псеудотумори
$>23$	болови у куку, ментални проблеми (концентрација, меморија), вертиго, глувоћа
$> 66$	слепило, болови у куку, глувоћа, тремор, компликације срца, абнормални крвни притисак, депресија, слабост

## Судска токсикологија

Област токсикологије која се бави детекцијом и идентификацијом отрова у биолошком и другом материјалу и интерпретацијом добијених резултата у случајевима који могу имати **медицинско-правне последице**




Орфилије 1813. – отац модерне токсикологије, ужаснут злочинима тровања арсеном:

*“Хемичар, мора тежити усавршавању метода потребних за доказивање случајева тровања, да би се расветлио злочин а кривац казнио”*



## Алкохол

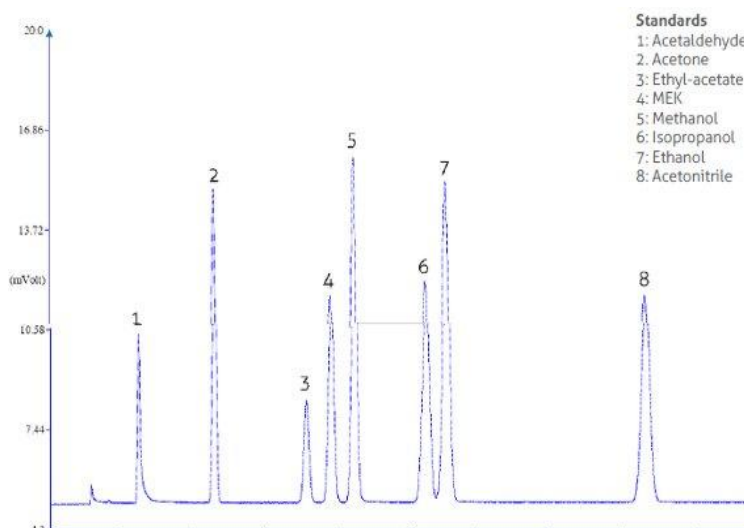
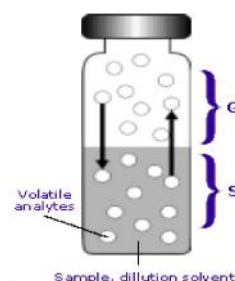
- Најчешће анализирана супстанца у судској токсикологији
  - Алкохол - највише злоупотребљавана дрога
  - Тровање алкохолом – некада смртоносно
  - Смртоносне повреде
  - Саобраћајне незгоде
  - Утапања
  - Убиства
  - Самоубиства
  - Кривична дела
  - Несреће на радном месту и у кругу породице
- 
- **Медицинско -правне последице актера догађаја у стању алкохолисаности**

## Алкохол

- **GC-FID** - метода избора за анализу акохола у биолошком и другом материјалу
- Могуће је разликовати етил од метил-алкохола
- Потребна је мала количина узорка за анализу (0,1 mL у односу на 5 mL за методу оксидо-редукције)
- Време трајања анализе 3,5 минута
- Метода – специфична, тачна, осетљива, LD 0,01 g/L



Гасни хроматограф – GC-FID



# Лекови

- **Течна хроматографија** – метода избора за аналитику лекова
- **Терапијско праћење нивоа лека у крви или одређивање нивоа неких лекова у случајевима тровања или смртог исхода** – неопходна примена LC-MS или LC-MS/MS технике
- Терапијске концентрације неких лекова су веома ниске  
за халоперидол 0,005-0,015 mg/L, рисперидон 0,001-0,003 mg/L
- **Мала разлика између терапијске и токсичне концентрације лека**
- Токсичне концентрације за халоперидол 0,05-0,01 mg/L, за рисперидон 0,008 mg/L



Течни хроматограф – тандем масени  
спектрометар (LC-MS/MS)



Течни хроматограф високе ефикасности  
(UHPLC)

## Психоактивне супстанце

- Употреба **ензимских техника и брзих тестова за анализу** на присуство дрога може се користити само **као прелиминарни тест**
- Недостаци:
- Постоји могућност добијања лажно позитивних и негативних резултата
- Ниска специфичност – детектује класу дроге, не молекул
- Постоје тестови за лимитиран број супстанци
- **Гасна или течна хроматографија са масеном спектрометријом**  
**обавезна потврдна техника за тестирање на присуство психоактивних супстанци**



Брзи тестови за аналитику дрога



Гасни хроматограф са масеним спектрометром (GC/MS)

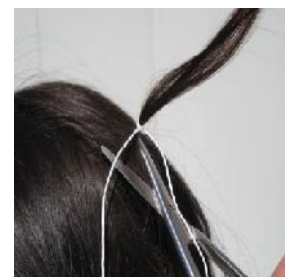


## Психоактивне супстанце

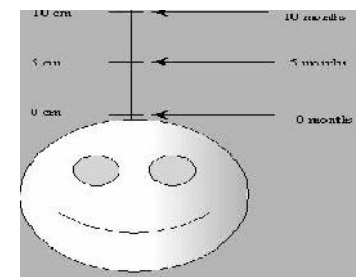
- Гасна и течна хроматографија са тандем масеном спектрометријом - методе избора за циљану анализу психоактивних супстанци
- **Дрога у коси** – дужи прозор детекције
- Већина дрога се брзо метаболише и некада се може детектовати само у узорку косе
- LD (pg)



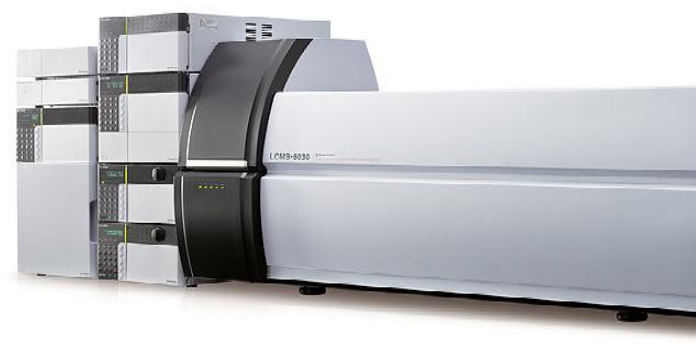
GC-MS/MS



Узорак косе за анализу



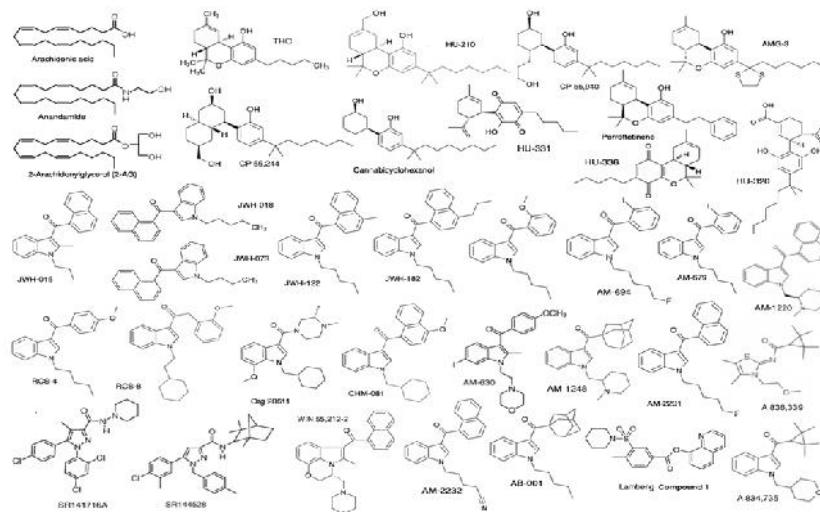
Просечан раст косе за  
месец дана



LC-MS/MS

## Заплењени материјал

- Често предмет токсиколошке анализе и вештачења на суду
- Да ли је заплењени материјал дрога или не?
- Да ли се налази на списку контролисаних супстанци?
- Синтетски канабиноиди – синтетичке дроге у биљним мешавинама које се продају као освеживачи просторија /Биљни тамјан/
- Различита хемијска структура – заједничко деловање на канабиноидне рецепторе CB1 и CB2



## Deadly Highs | European authorities are fighting an influx of new drugs



**Mephedrone** ▲  
Also known as Meow Meow, Drone and M-Cat. Similar to amphetamines. Responsible for at least two deaths in Europe. Now banned in most European countries.

**Naphyrone**  
Also known as NR6-1. Similar to amphetamines. The U.K. this week announced a ban on it.

**BZP**  
Manufactured from piperazine, a substance used to treat intestinal roundworm infestations. BZP was investigated in the 1970s as a potential antidepressant, but the work was abandoned when it was found that the drug had stimulant properties similar to amphetamine.

Sources: European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction; U.K. Advisory Council on the Misuse of Drugs

**Spice** ▲  
A synthetic cannabinoid, similar to cannabis. It is sprayed on herbal leaves and smoked. Banned in most of Europe.

**MDAI**  
First developed as an experimental antidepressant by scientists at Purdue University. Never licensed for medical use. Similar to MDMA, better-known as ecstasy.

## Закључак

Модерно доба са аспекта токсикологије велики је изазов и озбиљан задатак који захтева не само мултидисциплинаран приступ већ и примену савремених инструменталних техника без којих није могуће одговорити на питања о токсичним супстанцама присутним у животној и радној средини или их повезати са узроком тровања.

Пут до поузданог аналитичког резултата, ниски нивои концентрације анализата које треба идентификовати или квантитативно одредити додатно отежава присуство разградних производа и комплексних матрикса који су пратећи елементи развоја средине у којој живимо.

Све строжија регулатива која обавезује праћење токсичних супстанци, њихових метаболита или разградних производа на нивоу пикограма подразумева коришћење савремених инструменталних техника којима се могу постићи ови захтеви.





ИНСТИТУТ ЗА ЈАВНО ЗДРАВЉЕ СРБИЈЕ  
„ДР МИЛАН ЈОВАНОВИЋ БАТУТ“

90  
ГОДИНА  
1924-2014

**Хвала на пажњи**

„Батутови дани“, 23–24. октобар 2014.