

NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU

UNIVERZITET U BEOGRADU – FARMACEUTSKI FAKULTET

U Beogradu, 19.03.2015.

Na sednici Nastavno-naučnog veća Farmaceutskog fakulteta, održanoj 22.01.2015. godine, imenovana je Komisija u sastavu:

1. Dr sc. Biljana Antonijević (mentor i predsednik Komisije), redovni profesor, Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
2. Dr sc. Zorica Bulat, docent, Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
3. Dr sc. Aurelija Spirić, naučni savetnik u penziji, Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd

za ocenu i odbranu završene doktorske disertacije pod nazivom „Procena rizika pri ekspoziciji organohalogenim kontaminantima i teškim metalima putem hrane“ kandidata Saše Jankovića. Na osnovu analize priložene doktorske disertacije podnosimo Nastavno-naučnom Veću Farmaceutskog fakulteta sledeći

I Z V E Š T A J

A. SADRŽAJ DOKTORSKE DISERTACIJE

Doktorska disertacija Saše Jankovića pod nazivom „Procena rizika pri ekspoziciji organohalogenim kontaminantima i teškim metalima putem hrane“ napisana je na 174 strane kucanog teksta formata A4, fontom *Times New Roman*, veličine 12 i proredom 1,5. Disertacija se sastoji iz sledećih celina: 1. Uvod, 2. Hipoteza i cilj istraživanja, 3. Materijal i metode,

4. Rezultati, 5. Diskusija, 6. Zaključak, 7. Literatura, 8. Prilozi.

Na početku doktorske disertacije dat je sažetak na srpskom i engleskom jeziku. Disertacija je napisana jasnim jezičkim stilom i sadrži 38 slika (2 u Rezultatima i 36 u Prilogu II), 63 tabele (5 u Materijalu i metodama, 57 u Rezultatima i 1 u Prilogu I) i 227 literaturnih navoda.

Poglavlje Uvod podeljeno je u četiri odeljka. U uvodu je dat detaljan prikaz dosadašnjih saznanja iz oblasti koje su neposredno vezane za predmet disertacije. U prvom odeljku uvoda pod naslovom Istorijat dat je presek najznačajnijih događaja u prošlosti koji su uticali na oblast bezbednosti hrane. U sledećem odeljku, Procena rizika, objašnjen je koncept integrativne procene rizika, koji je i primenjen u delu ove disertacije. Odeljak Kontaminanti hrane podeljen je na šest delova tj. opisani su toksikološki značaj, toksikoniteka, mehanizmi dejstva i toksičnost odabranih kontaminanata, teških metala: kadmijuma (Cd), žive (Hg), olova (Pb) i organohalogenih jedinjenja: 1,1,1-trihlor-2,2-bis(4-hlorfenil)etana (DDT), polihlorovanih bifenila (ndl-PCB) i polibromovanih difeniletara (PBDE). U odeljku Toksični efekti smeša predočen je značaj ispitivanja toksikologije smeša, uz navođenje postojećih pristupa koji se koriste za interpretaciju toksičnosti smeša.

Ciljevi ove doktorske disertacije bili su sledeći: 1) odrediti koncentraciju kontaminanata Cd, Hg, Pb, DDT, ndl-PCB (kongenera 28, 52, 101, 118, 138, 153 i 180) i PBDE (kongenera 47, 99, 100, 153, 154 i 209) u namirnicama korišćenim u ishrani opšte populacije, osoba na mediteranskoj dijeti i dece, i proceniti stepen kontaminacije; 2) za različite scenarije ishrane, utvrditi izloženost opšte populacije, osoba na mediteranskoj dijeti i dece; 3) analizirati rezultate dobijene primenom determinističke i probalističke metode procene; 4) ispitati *in vitro* citotoksični efekat Cd, Hg, Pb, DDT, ndl-PCB i PBDE, kao i njihove smeše; 5) ispitati *in vitro* efekat Cd, Hg, Pb, DDT, ndl-PCB i PBDE, kao i njihove smeše, na produkciju reaktivnih vrsta kiseonika; 6) ispitati *in vitro* genotoksični efekat Cd, Hg, Pb, DDT, ndl-PCB i PBDE, kao i njihove smeše; 7) analizirati procenjeni rizik od pojedinačnih kontaminanata i njihove smeše.

U poglavlju Materijal i metode detaljno su opisana sprovedena ispitivanja i korišćene metode. Za ispitivanje koncentracija teških metala primenjena je atomska apsorpciona spektrofotometrija sa elektrotermalnom atomizacijom i tehnikom hladnih para. Organohalogeni jedinjenja određivana su gasnom hromatografijom sa detektorom elektronskog zahvata. U proceni ekspozicije korišćeni su podaci o koncentracijama ispitivanih kontaminanata u odabranim namirnicama shodno bazi podataka Svetske zdravstvene organizacije (WHO – World Health

Organization). Ispitivane su tri populacione grupe: opšta populacija, populacija odraslih na mediteranskoj dijeti i deca. Za procenu unosa pojedinih namirnica u ispitivanju su korišćeni podaci WHO o prosečnoj ishrani odraslog stanovništva Srbije, jelovnici predškolskih ustanova i jelovnici mediteranske dijete koja se preporučuje obolelima od kardiovaskularnih bolesti i dijabetičarima. Za telesne mase odrasle populacije korišćeni su podaci nacionalne studije Klinike za endokrinologiju Kliničkog centra Vojvodine, Novi Sad, koji su dobijeni za potrebe zajedničkog rada. Takođe su opisane i *in vitro* metode za procenu citotoksičnosti, produkcije ROS i genotoksičnosti preko merenja intenziteta DNK u repu jedra i dužine repa jedra. U odeljku Statistička obrada podataka dat je prikaz statističkih metoda i softvera korišćenih u obradi dobijenih rezultata.

U poglavlju Rezultati predstavljani su rezultati koncentracija toksičnih metala i organohalogenih jedinjenja u namirnicama, izloženosti svake ispitivane populacione grupe determinističkom i probabilističkom metodologijom i integrativne procene rizika. Takođe, dati su rezultati i *in vitro* ispitivanja citotoksičnosti, produkcije reaktivnih vrsta kiseonika i genotoksičnosti.

U poglavlju Diskusija, kandidat je dobijene rezultate detaljno poredio sa odgovarajućim rezultatima drugih autora. U cilju analize obima i prirode ukupnog rizika razmatrani su mogući efekata i mehanizmi toksičnosti smeše svih šest kontaminanata u odnosu na ispitivane efekte svakog kontaminanta pojedinačno.

Na kraju disertacije dati su Zaključci koji proizilaze iz rezultata istraživanja i njihove analize.

U poglavlju Literatura dat je spisak literaturnih navoda (227) citiranih vankuverskim sistemom.

B. OPIS POSTIGNUTIH REZULTATA

Sprovedena studija je doprinela utvrđivanju stepena kontaminacije ispitivanih toksičnih supstanci u namirnicama, unosa teških metala i organohalogenih jedinjenja u opštoj populaciji, populaciji na mediteranskoj dijeti i populaciji dece, proceni rizika od ispitivanih kontaminanata poređenjem unosa sa referentnim vrednostima. Rezultati studije obuhvataju i komparativni prikaz razlika u citotoksičnom i genotoksičnom potencijalu smeše ispitivanih kontaminanata u odnosu na efekte pojedinačno primenjenih otrova. Saglasno postavljenoj hipotezi, dobijeni rezultati pokazuju da iako je izloženost pojedinačnim toksičnim supstancama u granicama koje

su bezbedne po zdravlje ljudi, rezultati dobijeni u integrativnom pristupu ukazuju na mogućnost postojanja rizika, uz pretpostavku o aditivnom tipu interakcije između ispitivanih supstanci.

Kadmijum je, u poređenju sa Hg i Pb, detektovan u najvećem procentu ispitivanih namirnica i u najvećem broju ispitanih uzoraka. Procentualno najveća zastupljenost Cd u ispitivanim namirnicama utvrđena je za grupu mekušaca i glavonožaca tj. u lignjama i školjkama, zatim u proizvodima od krompira, lisnatom i stabljičastom povrću, proizvodima od kakaoa i iznutricama. U lignjama je izmerena i najveća koncentracija Cd od 520 ng/g, kao i najveća srednja vrednost, 50. i 95. percentil vrednosti. Prosečna koncentracija Cd visoka je i u iznutricama, celeru, uljaricama i kakau i proizvodima od kakaoa.

Živa je detektovana u 6 od 50 ispitivanih grupa namirnica, a najveća zastupljenost Hg u namirnicama bila je u grupi morske ribe. Pored riba, mekušaca, glavonožaca i njihovih proizvoda, Hg je detektovana još samo u uzorcima iznutrica domaćih životinja. Maksimalna koncentracija od 1255 ng Hg/g, detektovana je u ribi bucov, izlovljenoj iz Dunava, dok je prosečno 70 ng Hg/g takođe najviše bilo u slatkovodnoj ribi. Najveća vrednost 50. percentila od 34 ng/g, dobijena je za grupu morske ribe, dok je najveća vrednost 95. percentila dobijena za slatkovodnu ribu i iznosila je 284 ng/g.

Olovo je od 50 ispitanih grupa namirnica detektovano u 26, ali u samo 4,7% ukupno ispitanih uzoraka. Najveća zastupljenost Pb u namirnicama bila je u grupi čajeva i začina i dodacima jelu, ali je i u ovim namirnicama broj uzoraka u kojima je detektovano bio ispod 50%. U grupi čajeva izmerena je najveća koncentracija od 1480 ng/g, dok je prosečna koncentracija Pb takođe bila najviša u čaju, a zatim u začinima i dodacima jelu.

Od ispitanih 50 grupa namirnica, DDT je detektovan jedino u mleku i mlečnim proizvodima i ribi i proizvodima od ribe. Najveća zastupljenost DDT u namirnicama, preko 80%, zapažena je u grupi slatkovodne ribe. Maksimalna vrednost DDT izmerena je u morskoj ribi i dostizala je 89 ng/g, dok je prosečno najveća vrednost DDT izmerena u slatkovodnoj ribi.

U više od 60% uzoraka slatkovodne ribe detektovani su ndl-PCB, dok je taj procenat niži od 50% u uzorcima morske ribe i proizvoda od ribe. Prosečno, najviše koncentracije ndl-PCB detektovane su u morskoj ribi. Od sedam ispitivanih kongenera, najzastupljeniji su bili kongener PCB 138 – 36% i kongener PCB 153 – 28% od ukupnih ndl-PCB.

Polibromovani difeniletri su detektovani samo u slatkovodnoj i morskoj ribi i proizvodima od ribe, i to kongener BDE 47 u svim uzorcima, a kongener BDE 100 u 12%

uzoraka. Polibromovani difeniletri detektovani su u veoma niskim koncentracijama, sa maksimumom od svega 6 ng/g. Prosečno, najviša koncentracija PBDE detektovana je u morskoj ribi.

Svi uzorci ispitivanih namirnica su, u pogledu koncentracije teških metala i organohalogenih jedinjenja, bili u skladu sa važećim propisom, sa izuzetkom jednog uzorka ribe u kom je sadržaj Hg bio iznad maksimalno dozvoljene koncentracije i 16 uzoraka kakaoa sa povećanim sadržajem Cd

Minimalan nedeljni unos Cd u opštoj populaciji bio je 0,343 µg/kg t.m., dok je maksimalno procenjeni unos Cd kada je primenjen najnepovoljniji scenario ishrane (scenario D), u kome je unos Cd bio 26,993 µg/kg t.m. Indeks hazarda (HI) izračunat za unos Cd u svim scenarijima gde je unos računat preko srednje vrednosti koncentracije Cd u namirnicama (scenario A), odnosno za 50. percentil koncentracija (scenario B), bio je niži od 1. Primenom vrednosti za 95. percentil (scenario C) i maksimalne koncentracije Cd u namirnicama, svi izračunati HI bili su veći od 1. Izračunati nedeljni unos Cd kod osoba na mediteranskoj dijeti bio je u opsegu 1,122 – 35,262 µg/kg t.m. i veoma se malo razlikovao od nedeljnog unosa kod opšte populacije. Sledstveno je i vrednost HI, slično opštoj populaciji, za scenarije A i B bio niži od 1. Ukupan nedeljni unos Cd kod dece u svim pretpostavljenim scenarijima, sem scenarija sa maksimalnim koncentracijama kontaminanata, bio je viši u odnosu na druge dve populacione grupe. Međutim, i pored toga, izračunati HI i za populaciju dece u scenarijima A i B bio je niži od 1.

Procenjeni rizik usled unosa Hg izražen preko HI, bio je niži od 1 u svim posmatranim scenarijima opšte populacije, izuzev u scenarijima D i C kod dela populacije sa 5. percentilom telesne mase. Procenjeni nedeljni unos Hg u populaciji na mediteranskoj dijeti, s obzirom na veći unos ribe i proizvoda od ribe, bio je veći nego unos kod opšte populacije. Izračunati HI unosa Hg u populaciji na mediteranskoj dijeti u scenarijima A i B bio je niži od 1. Očekivano, kada su korišćeni 95. percentili i maksimalne koncentracije Hg u namirnicama postojao je povećan rizik od unosa Hg tj. vrednosti HI bile su veće od 1. Ne računajući ekstremni scenario ishrane, samo u slučaju primenjenih 95. percentila vrednosti Hg u namirnicama, vrednost HI za Hg u populaciji dece bio je neznatno veći od 1.

Prosečan nedeljni unos Pb kod opšte populacije bio je 1,369 µg/kg t.m. Vrednosti HI bili su manji od jedan u svim posmatranim scenarijima osim vrednosti dobijenih u najnepovoljnijem scenariju D. Kod populacije na mediteranskoj dijeti, izračunati unos Pb je bio niži od unosa kod

opšte populacije i kretao se u opsegu 0,993 – 12,552 $\mu\text{g}/\text{kg}$ t.m. Slično opštoj populaciji, i kod osoba na mediteranskoj dijeti su HI vrednosti bile niže od 1, uz izuzetak najnepovoljnijeg scenarija. U zavisnosti od koncentracija Pb u namirnicama uzetim za proračun, kao i od telesnih masa dece, dnevni unos je bio u opsegu od 1,084 $\mu\text{g}/\text{kg}$ t.m. do 52,544 $\mu\text{g}/\text{kg}$ t.m. za najnepovoljniji D scenario. Kod dece ne postoji veliki rizik od unosa Pb budući da su, ne računajući ekstremni scenario ishrane, vrednosti HI bile ispod 1.

Populacija na mediteranskoj dijeti imala je veći nedeljni unos DDT od opšte populacije zbog većeg unosa namirnica u kojima je DDT detektovan. Procenjeni rizik u ove dve populacije izražen preko HI je bio veoma mali, daleko ispod 1. U odnosu na ostale ispitivane grupe, nedeljni unos DDT bio je najviši kod dece, a najveća vrednost je iznosila 2,829 $\mu\text{g}/\text{kg}$ t.m. Posledično su i HI vrednosti kod dece bile najveće, ali i dalje mnogo manje od referentne vrednosti.

Ukupan nedeljni unos ndl-PCB u najnepovoljnijem scenariju kod opšte populacije iznosio je 0,413 $\mu\text{g}/\text{kg}$ t.m. Samo u scenarijima A i B, uz uslov da su uzorcima u kojima ndl-PCB nisu detektovani dodeljene vrednosti nule (scenario a), HI je bio niži od 1. U svim ostalim scenarijima, vrednosti HI ndl-PCB su prelazile bezbedne nivoe, sa maksimalnim HI od 5,9. Slične vrednosti su dobijene i za populaciju na mediteranskoj dijeti. Nešto veće vrednosti unosa ndl-PCB zabeležene su u populaciji dece, ali su vrednosti HI takođe bile niže od 1 samo u scenarijima Aa i Ba.

Čak i u najnepovoljnijem scenariju, HI vrednosti za PBDE u svim ispitivanim populacionim grupama ne prelaze 2% od prihvatljivog unosa PBDE.

Probabilističkom metodologijom dobijeni HI za unos Cd, računajući prosečnu ekspoziciju Cd, 50. i 95. percentil opšte populacije, kao i maksimalnu izloženost, bili su veći od 1. Vrednosti HI niže od 1 dobijene su samo za minimalnu ekspoziciju. Dobijeni HI za Cd u populaciji sa mediteranskom ishranom nešto su niži od onih kod populacije sa uobičajenim načinom ishrane. Osim za najnižu ekspoziciju, HI su viši od 1 za sve posmatrane scenarije i odabrane grupe. Izloženost dece Cd preko hrane bila je veća od izloženosti odraslih bez obzira na ispitivani scenario. Vrednosti HI su niže od jedan samo za minimalno izloženi deo populacije dece, dok je maksimalno zabeležen HI za scenario b iznosio čak 4,5.

Vrednosti HI za Pb dobijeni probabilističkom metodologijom iz izračunatih nedeljnih unosa pokazuju da je unos Pb bezbedan u opštoj populaciji, osim kod maksimalne ekspozicije za scenario u kome su uzorcima u kojima Pb nije detektovano dodeljene vrednosti polovine limita

detekcije (scenario b). Nešto veći nedeljni unos Pb u populaciji osoba na mediteranskoj dijeti, uslovio je i da vrednosti HI budu iznad 1 ne samo u maksimalno eksponovanom delu populacije, već i za 95. percentil populacije, dok je kod dece HI za Pb veći od 1 za maksimalno izloženi deo populacije dece i na graničnoj vrednosti HI za 95. percentil.

Vrednosti HI za unos DDT, dobijene na osnovu probablistički izračunatog nedeljnog unosa DDT, pokazale su da je rizik od unosa DDT hranom u sve tri populacione grupe veoma mali, jer je najveći HI imao vrednost od 0,03. I pored niskih vrednosti, HI je kod populacije dece bio najveći.

Slično determinističkoj proceni i probablističkom metodologijom su za sve vrednosti unosa ndl-PCB, sem za deo opšte populacije sa minimalnom ekspozicijom, u primenjenom scenariju sa zamenom nultih vrednosti (scenario a) vrednostima polovine limita detekcije, dobijene HI vrednosti veće od 1. Drugačije vrednosti dobijene su za scenario a, kada samo deo opšte populacije sa maksimalnim unosom ndl-PCB ima povećan rizik od toksičnog dejstva ndl-PCB. Nešto veći unos ndl-PCB u populaciji na mediteranskoj dijeti, uslovio je da su i HI vrednosti bile veće od jedan ne samo u scenarijima b, već i u scenariju a za 95. percentil populacije. S obzirom da je u populaciji dece zabeležen najveći unos ndl-PCB, očekivano su i HI vrednosti bile najveće. U svim scenarijima b, čak i za minimalno izložen deo populacije, HI je bio veći od jedan.

Izračunati nedeljni unos PBDE kod dece je veći od unosa kod druge dve populacione grupe, a najveća vrednost bila je 0,221 $\mu\text{g}/\text{kg}$ t.m., ali su kao i pri determinističkoj proceni, i probablističkom procenom ekspozicije dobijene izuzetno niske vrednosti HI u sve tri ispitivane populacione grupe.

I kod determinističkog i kod probablističkog proračuna, uz pretpostavku aditivnosti efekata ispitivanih supstanci, zbir vrednosti HI svih kontaminanata obuhvaćenih ovom studijom, u većini scenarija bio je veći od jedan. Dobijeni *in vitro* citotoksični efekat i efekat na produkciju ROS smeše kontaminanata bio je veći od pojedinačno ispitivanih kontaminanata za niže koncentracione nivoe bliske vrednostima kontaminanata u ispitivanim namirnicama.

C. UPOREDNA ANALIZA REZULTATA DOKTORSKE DISERTACIJE SA PODACIMA IZ LITERATURE

Prema našim saznanjima, ovo je prvo istraživanje koje se bavi procenom rizika smeše Cd, Hg, Pb, DDT, ndl-PCB i PBDE u različitim populacionim grupama u Srbiji. Dobijeni nivoi

Cd u namirnicama korišćenim u Srbiji slični su koncentracijama Cd u namirnicama drugih zemalja. Visoke koncentracije Cd nađene su u lisnatom povrću, krompiru, žitaricama, školjkama, glavonošcima, dok je nivo Cd znatno manji u mesu, jajima, mleku i ribi, sa izuzetkom jetre i bubrega u kojima se Cd akumulira (1-4).

Literaturni podaci pokazuju da je i u drugim zemljama unos Cd preko hrane znatan. Tako Leblanc i sar. (5) u Francuskoj dokazuju da unos Cd na nedeljnom nivou i preračunato na prosečnu telesnu masu od 60 kg iznosi 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ t.m. Urieta i sar. (6), u Španiji nalaze nešto niže vrednosti – 1,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ t.m. Cd nedeljno, dok u Grčkoj Tsoumbaris i sar. (7) dolaze do vrednosti od 50% tadašnjeg PTWI (PTWI - *Provisional Tolerable Weekly Intake*) tj. do unosa Cd od 3,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ t.m. što je premašilo sadašnju TWI (TWI - *Tolerable Weekly Intake*) vrednost (2,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ t.m.) za 40%. U studiji EFSA (EFSA – *European Food Safety Authority*) (3), dobijene su veće vrednosti unosa Cd za opštu populaciju i decu, nego vrednosti deterministički procenjenog unosa u ovoj studiji. Nešto niže vrednosti nedelnog unosa Cd, bliske dobijenim nivoima determinističke procene u Srbiji, dobijaju Sand i Becker u Švedskoj (8) i Marti-Cid i sar. za populaciju Katalonije (9). Horiguchi i sar. u Japanu (10) zaključuju da stanovnici Japana unose od 2,27 do 6,72 μg Cd/kg t.m. nedeljno. U SAD procenjeni dnevni unos Cd kod odrasle populacije odgovara vrednostima dobijenim determinističkom metodom za opštu populaciju u Srbiji (11).

Vrednosti dobijene za koncentraciju Hg u ribama korišćenim u ishrani stanovništva Srbije niže su od prosečnih nivoa Hg u ribama evropskih zemalja. U Danskoj je srednja vrednost koncentracija Hg u ribi 52 ng/g, u Nemačkoj 173 ng/g, u Belgiji 189 ng/g, dok je najveća prosečna koncentracija Hg u ribama Portugalije i iznosi 323 ng/g (12). Niže vrednosti od procenjenog unosa Hg u Srbiji dobijene su u studiji u kojoj je učestvovalo 20 evropskih zemalja u periodu 2004-2011. (13), kao i kod stanovnika SAD (14), dok je veći unos dobijen u Francuskoj (15), Kataloniji (16), Farskim Ostrvima (17), na Grenlandu (18) i u Portugalskoj oblasti Ria de Aveiro zagađenoj živom iz postrojenja hemijske industrije (19).

U dostupnoj literaturi uočava se veliki raspon vrednosti procenjenog unosa Pb. Tako su ispitivanja u EU krajem prošlog veka pokazala da se unos Pb kretao od 16 $\mu\text{g}/\text{dan}$, koliko objavljuju Cuadrado i sar. (20) u Španiji, pa do 280 $\mu\text{g}/\text{dan}$ koliko je Kumpulainen 1996. godine procenio da je unos kod stanovništva Italije (21). Preračunato na nedeljni nivo i prosečnu telesnu masu od 70 kg, u odnosu na PTWI vrednost od 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ t.m., navedene vrednosti unosa predstavljaju 6% odnosno 112% unosa. Unos Pb sličan onom koji je dobijen za Srbiju u ovom

ispitivanju, procenjen je u Grčkoj (56% od PTWI) (7), i u Belgiji (83,5% od PTWI) (22). U Holandiji de Winter-Sorkina i sar. (23) zaključuju da je prosečan dnevni unos Pb u opštoj populaciji 0,05 µg/kg t.m., dok je populacija dece starosti 1-6 godina dnevno unosila prosečno 0,10 µg/kg t.m., što je značajno manje od unosa Pb kod populacije odraslih i dece u Srbiji.

Procenjeni unos DDT preko hrane u Srbiji višestruko je niži u poređenju sa dostupnim podacima za zemlje u kojima riba zauzima značajno mesto u ishrani kao što su Hong Kong (24) i Grenland (25). Slične vrednosti unosa DDT u Srbiji nalazimo u SAD (26), Švedskoj (27) i Češkoj (28).

Procenjeni unos ndl-PCB u evropskim zemljama prema proceni EFSA je nešto veći od vrednosti nedeljnog unosa ndl-PCB koji je dobijen probabilističkom procenom za 50. percentil populacije (29). Procena JECFA (JECFA – *Joint Expert Committee on Food Additives and Contaminants*) (30) je da je prosečan unos PBDE u Evropi 2,2 ng/kg t.m./dan a u Severnoj Americi 25,2 ng/kg t.m. nedeljno, što je više od vrednosti dobijenih probabilističkom procenom u Srbiji u kojoj je dobijen nedeljni unos PBDE od 4,2 ng/kg t.m. za opštu populaciju, 11,2 ng/kg t.m. za osobe na mediteranskoj dijeti i 7,7 ng/kg t.m. za decu.

Prema našim saznanjima, ovo je prvo istraživanje toksičnosti smeše Cd, Hg, Pb, DDT, ndl-PCB i PBDE *in vitro*. Nakon primene smeše, citotoksični efekti i produkcija ROS bili su veći od istih efekata dobijenih pri primeni pojedinačnih supstanci. Eksperimentalno dobijena citotoksičnost za smešu najnižih koncentracija kontaminata veća je više od tri puta u odnosu na izračunatu vrednost na osnovu citotoksičnosti koju su ispoljili kontaminanti samostalno. Slično je i efekat smeše na produkciju ROS gotovo tri puta veći od izračunate produkcije ROS na osnovu efekta svakog kontaminanta pojedinačno i njegove koncentracije u smeši. Kod viših koncentracija kontaminanta u smešama povećanje efekta je manje, dok u najvišim primenjenim koncentracijama kontaminanata u smeši povećanje efekta smeše nije dokazano. Slično, Campain i sar. (31) u *in vitro* ispitivanju citotoksičnosti smeše olova, kadmijuma, arsena i hroma na keratinocitima dobijaju sinergistički efekat za primenjene niže koncentracije, dok je taj efekat antagonistički kada se primene visoke koncentracije ispitivanih elemenata. Dostupna ispitivanja toksičnosti smeša pokazuju različite rezultate u zavisnosti od ispitivanog efekta. Tako je za Cd i Pb u smeši utvrđen efekat veći od aditivnog za neurotoksičnost i reproduktivnu toksičnost, aditivni efekat za kardiovaskularna oštećenja, ali je za nefrotoksičnost i hematotoksičnost dokazan manji efekat smeše od efekta koji su izazvali ispitivani metali pojedinačno (32). U smeši, neurotoksičnost Hg i Pb, kao i efekat na renalnu funkciju su veći od aditivnog efekta

pojedinačno primenjenih kontaminanata (33). Sinergistički efekat na oštećenje regulatornog mehanizma nivoa dopamina u mozgu pokazuje smeša Hg i PCB (34). Ćurčić i sar. (35) ukazuju na veći citotoksični potencijal smeše Cd i PBDE 209 u odnosu na pojedinačne otrove i to primenjujući u *in vitro* ispitivanjima veoma niske koncentracije pomenutih kontaminanata. Imajući u vidu veći broj ispitivanih kontaminanata, kao i različite mehanizme njihovih delovanja, potrebna su opsežnija ispitivanja smeše koja bi uključivala evaluaciju većeg broja štetnih efekata preko odgovarajućih toksikokinetičkih i toksikodinamskih modela.

Literatura

- (1) UNEP, 2008. Interim Review of Scientific Information on Cadmium. Geneva: United Nations Environment Program. 2008.
- (2) EFSA, 2009. Cadmium in Food. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. The EFSA Journal. 2009;980:1–139.
- (3) WHO, 2011. Cadmium. Food Additives Series, 24. Geneva (Internet). Available at: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v024je09.htm>
- (4) EFSA, 2012. Cadmium dietary exposure in the European population. Scientific Report of EFSA. The EFSA Journal. 2012;10(1):2551,1-37.
- (5) Leblanc J, Malmauret L, Guerin T, Bordet F, Boursier B, Verger P. Estimation of the dietary intake of pesticide residues, lead, cadmium, arsenic and radionuclides in France. Food Addit Contam. 2000;17:1–8.
- (6) Urieta I, Jalon M, Eguileor I. Food surveillance in the Basque Country (Spain). II. Estimation of the dietary intake of organochlorine pesticides, heavy metals, arsenic, aflatoxin M1, iron, zinc through the total diet study, 1990/91. Food Addit Contam. 1996;13:29–52.
- (7) Tsoumbaris P, Tsoukali-Papadopoulou H. Heavy metals in common foodstuff: daily intake. Bull Environ Contam Toxicol. 1994;53:67–70.
- (8) Sand S, Becker W. Assessment of dietary cadmium exposure in Sweden and population health concern including scenario analysis. Food Chem Toxicol. 2012;50:536–44.
- (9) Martí-Cid R, Llobet JM, Castell V, Domingo JL. Dietary Intake of Arsenic, Cadmium, Mercury, and Lead by the Population of Catalonia, Spain. Biol Trace Elem Res. 2008;125:120-32.
- (10) Horiguchi H, Oguma E, Sasaki S, Miyamoto K, Ikeda Y, Machida M, Kayama F. Dietary exposure to cadmium at close the current provisional tolerable weekly intake does not affect renal function among female Japanese farmers. Environ Res. 2004;95:20-31.

- (11) ATSDR, 2012. Toxicological profile for cadmium, U.S. Department of health and human services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. September 2012.
- (12) Director-General Health and Consumer Protection, 2004. Assessment of the dietary exposure to arsenic, cadmium, lead and mercury of the population of the EU Member States. Reports of experts participating in Task 3.2.11. March 2004.
- (13) EFSA, 2012. Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. *The EFSA Journal*. 2012;10(12):2985.
- (14) Borchers A, Teuber SS, Keen CL, Gershwin ME. *Food Safety, Clinic Rev Allerg Immunol*. 2010;39:95–141.
- (15) Leblanc JC, Guérin T, Noël L, Calamassi-Tran G, Volatier JL, Verger P. Dietary exposure estimates of 18 elements from the 1st French Total Diet Study. *Food Addit Contam*. 2005;22(7):624–41.
- (16) Bocio A, Castell V, Falcó G, Gosálbez P, Ramos JC. Chemical contaminants: a total diet study in Catalonia. *Agencia Catalana de Seguretat Alimentaria, Barcelona, Spain*. 2005;146.
- (17) Weihe P, Grandjean P, Debes F, White R. Health implications for Faroe Islanders of heavy metals and NDL-PCBs from pilot whales. *Sci Total Environ*. 1996;186:141-8.
- (18) Johansen P, Pars T, Bjerregaard P. Lead, cadmium, mercury and selenium intake by Greenlanders from local marine food. *Sci Total Environ*. 2000;245:187-94.
- (19) Mieiro CL, Pacheco M, Duarte AC, Pereira ME. Fish consumption and risk of contamination by mercury – Considerations on the definition of edible parts based on the case study of European sea bass. *Mar Pollut Bull*. 2011;62:2850-3.
- (20) Cuadrado C, Kumpulainen J, Moreiras O. Contaminants and nutrients in total diets in Spain. *Eur J Clin Nutr*. 1995;49:767-78.
- (21) Kumpulainen J. Proceedings of Technical Work-shop on Trace elements, Natural Antioxidants and Contaminants, Helsinki, Finland, August 25-26, 1995. FAO, vol. 49, Rome. 1995.
- (22) Buchet JP, Lauwery R, Vandervoerde A, Pycke JM. Oral daily intake of cadmium, lead, manganese, copper, chromium, mercury, calcium, zinc, and arsenic in Belgium: a duplicate meal study. *Food Chem Toxicol*. 1983;21:19-24.

- (23) de Winter-Sorkina R, Bakker MI, van Donkersgoed G, van Klaveren JD. Dietary intake of heavy metals (cadmium, lead and mercury) by the Dutch population. RIVM report 320103001/2003. 2003.
- (24) Cheung KC, Leung HM, Kong KY, Wong MH. Residual levels of DDTs and PAHs in freshwater and marine fish from Hong Kong markets and their health risk assessment. *Chemosphere*. 2007;66:460-8.
- (25) Johansen P, Muir D, Asmund G, Riget F. Human exposure to contaminants in the traditional Greenland diet. *Sci Total Environ*. 2004;331:189-206.
- (26) ATSDR, 2002. Toxicological profile for DDT, DDD and DDD, U.S. Department of health and human services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. September 2002.
- (27) Darnerud PO, Atuma S, Aune M, Bjerselius R, Glynn A, Petersson Grawé K, Becker W. Dietary intake estimations of organohalogen contaminants (dioxins, NDL-PCB, PBDE and chlorinated pesticides, e.g. DDT) based on Swedish market basket data. *Food Chem Toxicol*. 2006;44:1597-1606.
- (28) Adamikanova V, Borkovcova I, Dofkova M, Karpiskova K, Klimova M, Kolackova I, Krbuskova M, Janouskova E, Mikolas J, Ostry V, Pejchalova K, Rehakova J, Resova D, Ruprich J, Rehurkova I, Skarkova J. Environment and Health Monitoring Programme: Part IV. Dietary exposure. Internal report of the National Institute of Public Health, Prague, Czech Republic. 2003.
- (29) EFSA, 2005. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to the presence of non dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCB) in feed and food, Adopted on 8 November 2005. *The EFSA Journal*. 2005;284:1–137.
- (30) Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2005. Evaluation of certain food contaminants : 64th report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Rome, Italy. 2005.
- (31) Campain JA, Bae D, Gennings C. Toxicological interactions among arsenic, cadmium, chromium, and lead in human keratinocytes. *Toxicol Sci*. 2000;54(1):226.
- (32) ATSDR, 2004. Interaction profile for: arsenic, cadmium, chromium, and lead. Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2004.
- (33) ATSDR, 2006. Interaction profile for: chlorpyrifos, lead, mercury, and methylmercury. Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2004.

(34) ATSDR, 2004. Interaction profile for: persistent chemicals found in fish (chlorinated dibenzo-*p*-dioxins, hexachlorobenzene, *p,p'*-dde, methylmercury, and polychlorinated biphenyls). Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2004.

(35) Ćurčić M, Durgo K, Kopjar N, Ančić M, Vučinić S, Antonijević B. Cadmium and decabrominated diphenyl ether mixture: In vitro evaluation of cytotoxic, prooxidative and genotoxic effects. *Environ Toxicol Phar.* 2014;38:663-71.

D. OBRAZLOŽENJE NAUČNOG DOPRINOSA DOKTORSKE DISERTACIJE

Procena rizika je naučno utemeljena disciplina toksikologije čiji je zadatak da utvrdi verovatnoću da kod izloženih osoba dođe do pojave toksičnog efekta, kao i da utvrdi prirodu i intenzitet nastalog efekta pod određenim uslovima ekspozicije. Podatke dobijene u analizi rizika kroz interaktivnu razmenu informacija i mišljenja koriste regulatorna tela u procesu upravljanja rizikom sa zadatkom uvođenja regulatornih mera i aktivnosti. Međutim, u naučnom smislu, u istraživanjima u oblasti procene rizika od najvećeg interesa su istraživanja u oblasti optimizacije modela koji se odlikuju visokom osetljivošću u odnosu na sve relevantne faktore koji utiču na izloženost i visokom pouzdanošću. Rezultati ove doktorske disertacije predstavljaju originalni naučni doprinos integrativnoj proceni rizika od efekata ispitivanih kontaminanata kod opšte populacije, populacije na mediteranskoj dijeli i populaciji dece u Srbiji.

Toksikologija smeša je naučno polje koje poslednjih godina dobija sve više na značaju kao rezultat potrebe da se integralno sagledaju efekti, kao i moguće interakcije, usled izloženosti većem broju toksičnih supstanci koje su prisutne u životnoj sredini, naročito usled različitih antropogenih aktivnosti. Među prioritete smeše spada i smeša Cd, Hg, Pb, DDT, ndl-PCB i PBDE koji su značajni kontaminanti životne sredine. U odnosu na ispitivanja sa pojedinačnim supstancama, modeli za ispitivanje smeša su veoma kompleksni. Stoga su analize dozne zavisnosti i utvrđivanje tipa interakcija pretpostavljali primenu i optimizaciju najsavremenijih metodoloških pristupa u toksikologiji.

Rezultati ove disertacije predstavljaju značajan doprinos ispitivanjima toksikologije smeša i integrativnoj proceni rizika pri ekspoziciji organohalogenim jedinjenjima i teškim metalima i sagledavanju mehanizma njihovih interakcija.

E. OBJAVLJENI I SAOPŠTENI REZULTATI KOJI ČINE SASTAVNI DEO DOKTORSKE DISERTACIJE

Rad u naučnim časopisima međunarodnog značaja (M20):

1. Janković S, Ćurčić M, Radičević T, Stefanović S, Lenhardt M, Durgo K, Antonijević B. Non-dioxin-like PCBs in ten different fish species from the Danube river in Serbia. *Environ Monit Assess.* 2011;181:153–63. **(M23)**
2. Antonijević B, Janković S, Ćurčić M, Durgo K, Stokić E, Srdić B, Tomić-Naglić D. Risk characterization for mercury, dichlorodiphenyltrichloroethane and polychlorinated biphenyls associated with fish consumption in Serbia. *Food Chem Toxicol.* 2011;49: 2586–93. **(M22)**

Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu (M34):

1. Janković S, Radičević T, Stefanović S, Nikolić D, Bošković T, Milićević D. Content of mercury in canned fish product available on Serbian market. 5th International Symposium on Recent Advances in food analysis. Prague, Czech Republic; November 5-8, 2011; Book of abstract: 210.
2. Janković S, Antonijević B, Ćurčić M, Stefanović S, Nikolić D, Radičević T, Petrović Z. Procena unosa žive hranom. 12. Kongres o ishrani sa međunarodnim učešćem, Ishranom do zdravlja u 21. veku. 31. oktobar - 3. novembar, 2012. Beograd, Srbija. Izvodi radova: 361.
3. Janković S, Ćurčić M, Durgo K, Stefanović S, Nikolić D, Antonijević B. Dietary exposure to toxic substances in adult population of Serbia. 11th Serbian congress of toxicology with international participation. June 24-27, 2014. Sremski Karlovci, Serbia. Abstract book. 2014;211- 212.

Rad u vodećem časopisu nacionalnog značaja (M51)

1. Janković S, Antonijević B, Ćurčić M, Radičević T, Stefanović S, Nikolić D, Ćupić V. Assessment of mercury intake associated with fish consumption in Serbia. *Tehnologija mesa.* 2012;53(1):56–61.

2. Janković S, Nikolić D, Stefanović S, Radičević T, Spirić D, Petrović Z. Estimated intake of cadmium through food consumption in Serbia. Tehnologija mesa. 2013;54(2):123-129.

Rad u časopisu nacionalnog značaja (M52):

1. Antonijević B, Milovanović V, Ćurčić M, Janković S, Jačević V, Vučinić S. Mehanizmi toksičnog dejstva i interakcije polihlorovanih bifenila i polibromovanih difeniletara. Veterinarski glasnik. 2012;66(3-4):259-71.

F. MIŠLJENJE I PREDLOG KOMISIJE

Analizom završene doktorske disertacije, može se konstatovati da je kandidat uspešno ostvario postavljene ciljeve, što je potkrepljeno objavljivanjem rezultata disertacije u naučnim časopisima međunarodnog značaja. Na osnovu izloženog, može se zaključiti da rezultati istraživanja u okviru ove doktorske disertacije pružaju originalan i značajan naučni doprinos u oblasti ispitivanja procene rizika i toksikologije smeša.

Uzimajući u obzir sve što je izloženo, predlažemo Nastavno-naučnom veću Univerziteta u Beogradu - Farmaceutskog fakulteta da prihvati ovaj izveštaj i odobri kandidatu Saši Jankoviću javnu odbranu doktorske disertacije pod nazivom:
„Procena rizika pri ekspoziciji organohalogenim kontaminantima i teškim metalima putem hrane“.

Dr sc. Biljana Antonijević (mentor), redovni profesor
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Dr sc. Zorica Bulat, docent
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Dr sc. Aurelija Spirić, naučni savetnik u penziji
Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd