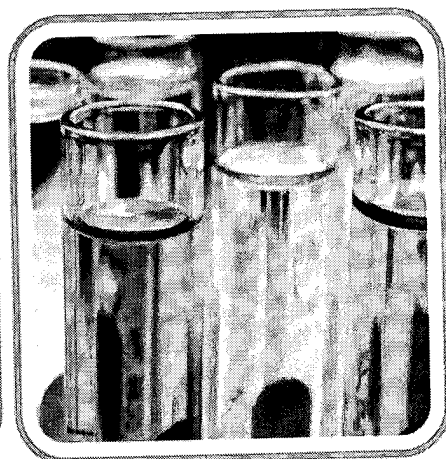
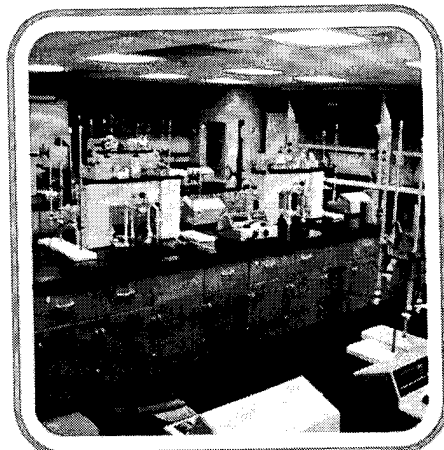
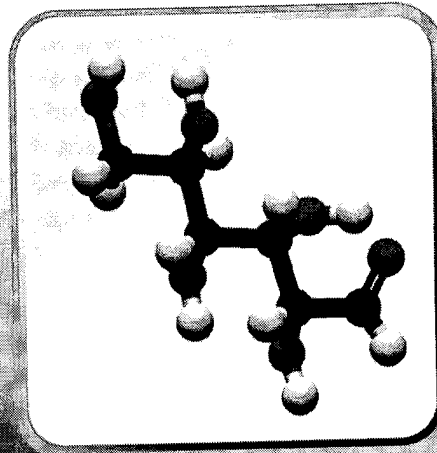


# Македонски Фармацевтски Macedonian Pharmaceutical Bulletin



57 (suppl) 2011



CLINICAL BIOCHEMISTRY/TOXICOLOGY/ FOOD AND NUTRITION		122
OP-20	<b>Fullerenol: Magic bullet or cell killer</b> Rade Injac, Borut Štrukelj	124
OP-21	<b>Derivative spectrophotometry in environmental, food and clinical samples analyses - Evaluation of EP7 monograph</b> K.Karljkovic-Rajic, B.Markovic	125
OP-22	<b>Viability of L. casei in symbiotic carrot juice during fermentation and storage</b> T. Petreska Ivanovska, L. Petrusavska Tozi, J. Hadzieva, K. Smilkov, N. Geskovski, K. Mladenovska	126
OP-23	<b>Targeted and non-targeted LCMS methods for detection and identification of toxicologically relevant compounds</b> Shaun Bilsborough	129
OP-24	<b>Myeloperoxidase - risk factor for cardiovascular disease</b> Milena Spasovska, Despina Efremova, Silvija Nesova, Tatjana Kadifkova Panovska	129
OP-25	<b>Science as a tool for protecting the working environment: drug and alcohol abuse in the workplace</b> Zoran Kavrakovski, Katerina Jugreva, Biljana Bauer Petrovska	131
OP-26	<b>New trends in biomonitoring: application of RAPD-PCR and Plant Model Systems to Genetic Ecotoxicology</b> Darinka Gjorgieva, Tatjana Kadifkova-Panovska, Saša Mitrev, Biljana Kovacevik, Emilija Kostadinovska	133
OP-27	<b>Fingerprint based prediction of genotoxicity of thiophenes</b> Ksenija Mickova Dimitrova, Igor Kuzmanovski	135
OP-28	<b>Monitoring of persistent organochlorine pesticides in surface water of the Prespa region</b> Tatjana Kadifkova Panovska, Katerina Stojkovska, Renata Slaveska Raicki	136
OP-29	<b>Laboratory Biomarkers in Cardiovascular Medicine</b> Hiljadnikova Bajro M., Kadifkova Panovska T.	137
PP-61	<b>Determination of total lead content in herbal drugs grown on different locations</b> Biljana Kaličanin, Ivana Arsić, Dragan Velimirović, Sonja Naumović	140
PP-62	<b>Determination of Aflatoxins in granular food with Charm II Analyzer</b> Dona Trombeva, Elizabeta Petkovska - Popovska	140
PP-63	<b>GSTP1, GSTM1 and GSTT1 genotypes and serum GST in male COPD</b> Žuntar Irena, Petlevski Roberta, Dodig Slavica, Popović-Grle Sanja	141
PP-64	<b>Characteristics of the water in Lake Ohrid and Biljana springs</b> Robertina Tomevska, Vera Novevska, Lidija Petrusavska-Tozi	142
PP-65	<b>Determination of Aluminum content in Drinking Waters by GFAAS</b> Suzana Angelova, Desa Jakimova, Gligor Manov	143
PP-66	<b>Antioxidant Status and DNA Damage Induced by Heavy Metals in Matricaria recutita L. (Asteraceae)</b> Darinka Gjorgieva, Tatjana Kadifkova-Panovska, Tatjana Ruskovska	144
PP-67	<b>Assessment of Genotoxicity of Xenobiotics by RAPD-PCR</b> Darinka Gjorgieva, Tatjana Kadifkova-Panovska, Saša Mitrev, Emilija Kostadinovska, Biljana Kovacevik	146
PP-68	<b>Drugs may contribute oral-facial clefts in newborn baby</b> Velickova, N., Gacova, M., Kamcev, N., Angelovska, B., Dimova, C.	147
PP-69	<b>Oxidative damage of proteins in plasma of rats exposed to acute oral or intraperitoneal treatment with cadmium</b> Aleksandra Buha, Jelena Kotur-Stevuljevic, Zorica Bulat, Danijela Djukic-Cosic, Jasmina Ivanišević, Vesna Matovic	149
PP-70	<b>Carbon monoxide levels in blood of smokers and non-smokers determined by gas chromatography</b> Aleksandra Buha, Zorica Bulat1, Veljko Petrović, Ivana Jakovljević, Teodora Đikić, Aleksandra Grković, Vesna Matovi	149
PP-71	<b>Trace elements levels in patients on treatment with atypical antipsychotics</b> Bojana Vidović, Brižita Đorđević, Zorica Bulat	150
PP-72	<b>Serum immune response for IgA and IgG antibodies of Helicobacter pylori from patients with gastric difficulties</b> Biserka Simonovska, Elizabeta Popovska, Nikola Simonovski, Slavko Kostoski	151
PP-73	<b>IgA and IgG antibodies - response in diagnosis of Helicobacter pylori infection in patients with gastric symptoms</b> Biserka Simonovska, Elizabeta Popovska, Nikola Simonovski	153

## ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНА НА АЛУМИНИУМ ВО ВОДА ЗА ПИЕЊЕ СО ГФААС

Сузана Ангелова, Деса Јаќимова, Глигор Манов

Центар за Јавно здравје Куманово

Солите на алуминиум, како на пример Алуминиум сулфат, имаат широка примена при третман на водата за пиење, како коагуланти за да го засилат отстранувањето на суспендраните, колоидните и растворените субстанции. Присуството на Алуминиум во водата за пиење дава повод за дискусија за можните ефекти по здравје, поради неговата поврзаност со Алцхајмеровата болест или ренална енцефалопатија.

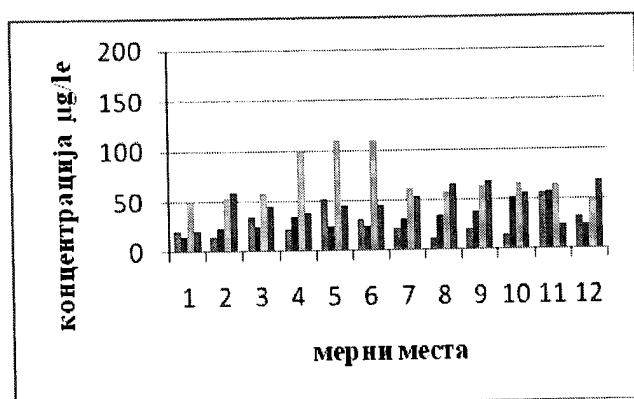
Главна цел на овој труд е да се разработи метод за определување на содржината на алуминиум во водата за пиење во водоводната мрежа.

Примероците на вода за анализа беа земени во полипропиленски шишиња, претходно третирани со 10% азотна киселина, и чувани на темно на +4°C до нивно анализирање. Примероците беа закиселени на pH<1 со примена на концентрирана HNO<sub>3</sub> (Merck Suprapur™). Во примероците на вода, определувањето на Алуминиум се изведува директно со примена на атомска апсорпциона спектрометрија со пиролитички обложена графитна кивета и бекграунд корекција (PerkinElmer AAnalyst 600). Стандардните раствори на алуминиум со концентрација од 10, 30 и 50 µg/l беа приготвени со разредување на комерцијален раствор на алуминиум со концентрација од 1000 mg/l Al. 0.1% раствор на Магнезиум нитрат е употребен како матрикс модифаер. Линеарниот опсег е од 0-50 µg/l, со коефициент на корелација 0.9995.

Податоците за алуминиум се добиени при следење на водата за пиење од водоводната мрежа во општина Куманово.

Во примероците кои беа анализирани, вредноста на алуминиум се движи помеѓу 12 и 109 µg/l.

Фигура1.



Светската здравствена организација има востановено максимално дозволена концентрација во водите за пиење од 200 µg/l алуминиум. Исто така, резултатите добиени за алуминиум се под максимално дозволените концентрации и согласно нашите законски регулативи. Овој метод е едноставен, брз и точен и е погоден за секојдневно анализирање на голем број примероци.

## ANTIOXIDANT STATUS AND DNA DAMAGE INDUCED BY HEAVY METALS IN *MATRICARIA RECUTITA L. (ASTERACEAE)*

Darinka Gjorgieva<sup>1</sup>, Tatjana Kadifkova-Panovska<sup>2</sup>,  
Tatjana Ruskovska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Medical Sciences, Goce Delčev University, Štip, R. Macedonia,

<sup>2</sup>Faculty of Pharmacy, Ss. Cyril and Methodius University, Skopje, R. Macedonia

Plants have been identified as sources of various phytochemicals, metabolites and active compounds, many of which possess important antioxidant activity [Kähkönen 1999]. Heavy metal stress in all living organisms often results in the production of reactive oxygen species (ROS), which are relatively reactive compared to molecular oxygen and thus potentially toxic [Van Assche and Clijsters, 1990]. Tolerance to heavy-metal stress has been correlated with efficient antioxidative defense system, as shown previously [Foyer et al., 1997; Dixit et al., 2001; Radić et al., 2009]. One of methods used to assess the total antioxidant capacity of plants is the ferric-reducing ability of plasma (FRAP) assay of Benzie and Strain (1996). Heavy metals also induce several cellular stress responses and damage to different cellular components such as membranes, proteins and DNA. DNA based techniques like Random amplified polymorphic DNA (RAPD) is used to evaluate the variation at the DNA sequence level and can clearly be shown when comparing DNA fingerprints from untreated and treated individuals to genotoxic agents [Savva D, 1998; Enan MR, 2006; Kekec et al., 2010]. The objective of the present study was to investigate whether exposure of selected plant (*Matricaria recutita L., Asteraceae*) to heavy metals can induce direct DNA damage and significant changes in endogenous total antioxidants level in the plant.

Samples from *Matricaria recutita L.* were sampled from two different areas, region with high industrial activity (city of Veles, around the lead-zinc plant) and naturally clear area, mountain Plačkovica. Leaves and flowers from the plants were analyzed by FRAP assay. Total antioxidant power of a freshly prepared, cooled, filtered infusion (0.5 g of dry leaves or flowers/50 mL of boiling, distilled water) of each sample was measured using the ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay [Benzie and Strain, 1996]. In the FRAP assay, reductants ("antioxidants") in the sample reduce Fe<sup>3+</sup>/tripirydyltriazine complex, present in stoichiometric excess, to the blue colored ferrous form, with an increase in absorbance at 595 nm. DNA extractions and amplifications were performed using REExtract-N-Amp Plant PCR Kit (Sigma-Aldrich). Amplifications were performed in a DNA thermocycler (Mastercycler personal, Eppendorf) using 5 steps PCR-protocol [Enan MR, 2006].

Heavy metal toxicity is considered to induce production of ROS, which may result in significant alterations in cell structure and mutagenesis. DNA damage induced by heavy metals were observed in obtained RAPD profiles as disappearance and/or appearance of bands in comparison between plants from areas with different metal exposition. Metals, also, induced oxidative stress in *Matricaria recutita L.* plants, as evident from the decreased values for total antioxidants in µmol FeSO<sub>4</sub> L<sup>-1</sup> in samples collected from Veles area: *M. recutita* leaves - 2080; *M. recutita* flowers - 2822, compared to samples sampled from Plačkovica mountain as: *M. recutita* leaves - 3960 and *M. recutita* flowers - 2908. Plants developed different mechanisms enabling them to

cope with metal accumulation in tissue and ROS formation induced by metals presence. Tissue damage and additional DNA changes occurs when the capacity of antioxidative systems becomes lower than the amount of ROS generated [Sgherri et al., 2003; Kováčik and Bačkor, 2008].

In summary, this study has shown that heavy metals can induce antioxidant stress and DNA damage. Antioxidative system of *M. recutita* seems to be inducible by environmentally encountered heavy metals concentrations. Balance of different levels of plant metabolism is essential for eliminating toxic effects of metals and maintaining of structural and metabolic integrity. Thus, oxidative stress characterized by increased production of ROS could be an important mechanism of metal toxicity, though extensive research is yet needed at the molecular and subcellular levels in order to get a deeper insight into metal toxicity.

## REFERENCES

- Benzie IFF, Strain JJ (1996). The ferric-reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 239:70-76
- Dixit V, Pandey V, Shyam R (2001). Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad). *J Exp Bot* 52:1101-1109.
- Enan MR (2006). Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to detect the genotoxic effect of heavy metals. *Biotechnol Appl Biochem* 43:147-154
- Foyer CH, Lopez-Delgado H, Dat JF, Scott IM (1997). Hydrogen peroxide and glutathione associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signaling. *Physiol Plant* 100:241-254
- Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha J, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 47:3954-3962
- Kekec G, Sakcali MS, Uzunur I (2010). Assessment of genotoxic effects of boron on wheat (*Triticum aestivum* L.) and bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by using RAPD analysis. *Bull Environ Contam Toxicol* 84(6):759-764
- Kováčik J, Bačkor M (2008). Oxidative status of *Matricaria chamomilla* plants related to cadmium and copper uptake. *Ecotoxicology* 17:471-479
- Radić S, Cvjetko P, Glavaš K, Roje V, Pevalek-Kozlina B, Pavlica M (2009). Oxidative stress and DNA damage in broad bean (*Vicia faba* L.) seedlings induced by thallium. *Environ Toxicol Chem* 28(1):189-196
- Savva D (1998). Use of DNA fingerprinting to detect genotoxic effects. *Ecotoxicol Environ Safety* 41:103-106.
- Sgherri C, Cosi E, Navari-Izzo F (2003). Phenols and antioxidative status of *Raphanus sativus* grown in copper excess. *Physiol Plant* 118:21-28
- Van Assche F, Clijsters H (1990). Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environ* 13:195-206.

## АНТИОКСИДАТИВЕН СТАТУС И DNA ОШТЕТУВАЊЕ ИНДУЦИРАНО ОД ТЕШКИ МЕТАЛИ КАЈ *MATRICARIA RECUTITA* L. (ASTERACEAE)

Даринка Ѓоргиева<sup>1</sup>, Татјана Кадифкова-Пановска<sup>2</sup>, Татјана Рушковска<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Факултет за медицински науки, Универзитет "Гоце Делчев", Штип, Р. Македонија,

<sup>2</sup>Фармацевтски факултет, Универзитет "Св. Кирил и Методиј", Скопје, Р. Македонија

Растителниот свет претставува богат извор на секундарни метаболити и активни компоненти, со потенцијална антиоксидативна активност [Kähkönen 1999]. Често тешките метали вршат влијание врз живите организми, што доведува до продукција на реактивни кисло-

родни видови (ROS – reactive oxygen species), кои во споредба со молекуларниот кислород се многу пореактивни и затоа потенцијално токсични [Van Assche and Clijsters, 1990]. Толеранцијата кон стресот од тешки метали е во тесна корелација со ефикасниот ендеген антиоксидативен одбранбен систем кај растенијата [Foyer et al., 1997; Dixit et al., 2001; Radić et al., 2009]. Квантифицирањето на тоталниот антиоксидативен капацитет кај растенија, како мерка за одбранбениот систем кон одреден стрес, може да се врши со примена на FRAP методот (Ferric-reducing ability of plasma - FRAP) воведен од Benzie and Strain во 1996. Тешките метали, исто така можат да индуцираат и клеточни одговори на стресот и оштетување на различни клеточни структури како што се мембраните, протеините и DNA. DNA базираните техники, како што е случајно амплифицираната полиморфна DNA техника (RAPD), се користат за евалуација на варијациите во DNA секвенците. Овие промени можат јасно да биде потврдени со компарирање на DNA "отпечатоците" добиени од третирани и нетретирани примероци со генотоксични агенси [Savva D, 1998; Enan MR, 2006; Kekec et al., 2010].

Целта на студијата е да се испита и евалуира влијанието на експозицијата на тешки метали кај избрано растение (*Matricaria recutita* L., Asteraceae) врз индуцирањето на DNA оштетување и промени во ендегениот антиоксидативен статус на растението.

Примероците од *Matricaria recutita* L. се собрани од две различни области: регион со висока индустриска активност (градот Велес, околу топилницата за олово и цинк) и контролни примероци од природно чист регион, планината Плачковица. Анализирани се листови и цветови од испитуваното растение со FRAP методот. Тоталниот антиоксидативен капацитет на свежо приготвени инфузи (0.5 g од исушената дрога/50 mL врела, дестилирана вода) од секој примерок е определен со FRAP метод [Benzie and Strain, 1996]. Евентуално присутните антиоксиданси во примерокот го редуцираат Fe<sup>3+</sup>/трипиридилтриазин комплексот присутен во стехиометриски однос, до сино обоена Fe<sup>2+</sup> форма, што се рефлектира како повисока апсорбација при 595 nm. DNA екстракцијата и амплификацијата е направена со користење на REDExtract-N-Amp Plant PCR Kit (Sigma-Aldrich). Амплификацијата се изведува во DNA thermocycler (Mastercycler personal, Eppendorf) со користење на протокол во 5 чекори [Enan MR, 2006].

Утврдено е дека токсичноста на тешките метали е поврзана со продукција на ROS, што сигнификантно влијае врз клеточната структура и мутагенезата. DNA оштетувањето индуцирано од тешки метали е набљудувано со добиените RAPD профили, како исчезнување и/или појава на фрагменти кај растенијата од области со различна експозиција на метали. Металите, исто така индуцираат и оксидативен стрес кај испитуваното растение, *Matricaria recutita* L., што е евидентно од намалувањето на вредностите за вкупните антиоксиданси изразени како  $\mu\text{mol FeSO}_4 \text{ L}^{-1}$  кај примероците од Велес: *M. recutita* лист - 2080; *M. recutita* цвет - 2822, во однос на примероците од Плачковица: *M. recutita* лист - 3960 и *M. recutita* цвет - 2908. Растенијата развиваат различни механизми за справување со акумулацијата на метали и продукцијата на ROS во ткивата. Кога капацитетот на антиоксидативниот систем ќе се намали до вредности пониски од количеството генерирани ROS, се појавува оштетување на ткивата и соодветни DNA промени [Sgherri et al., 2003; Kováčik and Bačkor, 2008].

Добиените резултати покажуваат дека тешките метали можат да индуцираат антиоксидативен стрес и DNA оштетување. Антиоксидативниот систем на *Matricaria recutita* L. може да биде активиран од тешки метали присутни во животната средина. Рамнотежата на различните нивоа од растителниот метаболизам е есенцијална за